



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV MATERIÁLOVÝCH VĚD A INŽENÝRSTVÍ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING

**MIKROSKOPIE: NÁSTROJ PRO MATERIÁLOVOU
ANALÝZU**

MICROSCOPY: TOOL FOR MATERIAL ANALYSIS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Kateřina Pleskalová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. Jan Čupera

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Ústav: Ústav materiálových věd a inženýrství
Studentka: **Kateřina Pleskalová**
Studijní program: Strojírenství
Studijní obor: Základy strojního inženýrství
Vedoucí práce: **Mgr. Jan Čupera**
Akademický rok: 2018/19

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Mikroskopie: nástroj pro materiálovou analýzu

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

V rámci BP vypracuje student rešeršní práci zabývající se popisem mikroskopických technik, které se využívají k analýze materiálů. Zejména se bude zabývat metodami světelné, konfokální a skenovací elektronové mikroskopie. Teoretická část bude obsahovat popis konstrukcí mikroskopů a dostupných detektorů sloužících k obrazové a prvkové analýze, jejich možností a limitů.

Cíle bakalářské práce:

Pochopit teoretické základy mikroskopických technik využívaných pro analýzu materiálů, fyzikální podstatu tvorby signálů a podstatu světelné a elektronové optiky.

Seznam doporučené literatury:

GOLDSTEIN, Joseph et al. Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis. Third edition. Boston, MA: Springer US, 2003. ISBN 9781461502159.

NEWBURY, Dale et al. Advanced Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. Boston, MA: Springer US, 1986. ISBN 9781475790276.

MURPHY, Douglas B. a Michael W. DAVIDSON. Fundamentals of light microscopy and electronic imaging. 2nd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Blackwell, c2013. ISBN 9780471692140.

PRICE, Robert L. a W. Gray JEROME. Basic confocal microscopy. New York: Springer, c2011. ISBN 978-0387781747.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2018/19

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Ivo Dlouhý, CSc.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

Abstrakt

Tato práce se zabývá popisem mikroskopických technik, které se využívají k analýze materiálů. V úvodní části je krátce shrnuta historie mikroskopie. První polovina práce je zaměřena na světelnou mikroskopii a více rozvedena je zde technika konfokální mikroskopie. Druhá polovina práce se soustředí na základní techniky elektronové mikroskopie, tedy transmisní a skenovací elektronovou mikroskopii. V závěru každé kapitoly jsou shrnuty limity a omezení, ale i výhody jednotlivých technik. Pro uvedené mikroskopické techniky je krátce popsána také příprava metalografických vzorků.

Klíčová slova

Světelná mikroskopie, transmisní elektronová mikroskopie, skenovací elektronová mikroskopie, struktura materiálů

Abstract

This thesis deals with description of the microscopic techniques that are used to analyse materials. The introductory part briefly summarizes the history of microscopy. The first part of the thesis is focused on light microscopy and the confocal microscopy technique is more elaborated here. The second part of the thesis is focused on basic techniques of electron microscopy, which means transmission electron microscopy and scanning electron microscopy. At the end of each chapter, there is summarization of limits and advantages of these techniques. The preparation of metallographic samples is also briefly described for these microscopic techniques.

Keywords

Light microscopy, transmission electron microscopy, scanning electron microscopy, structure of materials

Bibliografická citace

PLESKALOVÁ, Kateřina. *Mikroskopie: nástroj pro materiálovou analýzu*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/116009>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. Vedoucí práce Jan Čupera

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma **Mikroskopie: nástroj pro materiálovou analýzu** vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, které jsou součástí této práce.

V Brně dne: 27.5.2019

Podpis:

Kateřina Pleskalová

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu Mgr. Janu Čuperovi za cenné rady, vedení, trpělivost a ochotu při zpracovávání této bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala svým blízkým za podporu během studia.

Obsah

1	Úvod.....	11
2	MIKROSKOP	12
2.1	Historie mikroskopu	12
3	SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE	14
3.1	Konstrukce světelného mikroskopu.....	14
3.2	Optická soustava mikroskopu.....	15
3.3	Osvětlovací soustava	16
3.3.1	Kritické osvětlení	16
3.3.2	Köhlerovo osvětlení	16
3.4	Rozlišovací schopnost mikroskopu	17
3.4.1	Numerická apertura	18
3.4.2	Rozlišitelná vzdálenost.....	18
3.5	Zvětšení mikroskopu	18
3.5.1	Užitečné zvětšení mikroskopu	19
3.6	Hloubka ostrosti objektivu.....	19
3.7	Vady čoček	24
3.8	Příprava vzorků.....	26
3.9	Limity světelného mikroskopu	28
3.10	Zobrazovací metody	28
3.10.1	Zobrazení ve světlém poli	29
3.10.2	Zobrazení v tmavém poli.....	29
3.10.3	Polarizační mikroskopie	30
3.10.4	Fázový kontrast a interferenční mikroskopie	31
3.11	Konfokální mikroskopie	32
3.11.1	Princip konfokální mikroskopie	32
3.11.2	Mechanismus rastrování.....	34
3.11.3	Detektory	35
3.11.4	Fluorescenční konfokální mikroskopie	35
3.11.5	Využití konfokální mikroskopie.....	35
3.12	Stereomikroskop	35
4	ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	37
4.1	Základní princip.....	37

4.1.1	Interakce elektronů se vzorkem.....	37
4.1.2	Zdroj elektronů	43
4.1.3	Elektronové čočky	44
4.1.4	Vady elektromagnetických čoček	46
4.1.5	Rozlišení elektronového mikroskopu	47
4.2	Transmisní elektronová mikroskopie	48
4.2.1	Konstrukce transmisního elektronového mikroskopu.....	48
4.2.2	Optická soustava	49
4.2.3	Detektory	50
4.2.4	Kontrast v TEM.....	51
4.2.5	Obrazový mód v TEM.....	51
4.2.6	Difrakční mód v TEM	52
4.2.7	Prvková analýza v TEM	53
4.2.8	In-situ transmisní elektronová mikroskopie	54
4.2.9	Příprava vzorků pro TEM	54
4.2.10	Možnosti a limity TEM	56
4.3	Skenovací elektronová mikroskopie.....	56
4.3.1	Konstrukce SEM	57
4.3.2	Optická soustava SEM	57
4.3.3	Princip činnosti SEM	59
4.3.4	Zvětšení	61
4.3.5	Rozlišovací schopnost.....	61
4.3.6	Detektory SEM.....	62
4.3.7	Obrazové signály v SEM.....	64
4.3.8	Prvková analýza v SEM	66
4.3.9	Fázová analýza v SEM	68
4.3.10	Skenovací transmisní elektronová mikroskopie STEM	70
4.3.11	Příprava vzorků pro SEM.....	70
4.3.12	Možnosti a limity SEM	71
5	Závěr.....	73
6	Literatura	74
7	Seznam použitých zkratk a symbolů	77
8	Seznam obrázků	80

1 Úvod

Pozorování předmětů pomocí lidského oka má své limity. Proto se začaly vyvíjet techniky, které by umožnily pozorovat velmi malé objekty, lidským okem běžně nerozlišitelné. Z prvotního pozorování přes zvětšovací sklo se v průběhu let vyvinula nejdříve světelná a následně i elektronová mikroskopie. Mikroskop složený z více čoček nejprve používal k vytvoření obrazu světlo viditelného spektra. Vlnová délka světla však ovlivňuje rozlišovací schopnost mikroskopu. Velký zlom proto nastal, když se začaly objekty zobrazovat pomocí svazu elektronů s mnohem menší vlnovou délkou oproti viditelnému světlu, čímž bylo dosaženo mnohem lepšího rozlišení.

Tyto mikroskopické techniky nachází v materiálovém inženýrství uplatnění při pozorování povrchu materiálů. Struktura materiálů totiž významně ovlivňuje jejich vlastnosti. Její zkoumání nám umožňuje nacházet souvislosti mezi strukturou materiálu a jeho chováním. Pomocí mikroskopu můžeme například pozorovat poruchy krystalické mřížky, vliv tepelného zpracování na strukturu a lomové plochy při únavovém lomu. Na základě pozorování pak lze přizpůsobit strukturu a složení materiálu dané aplikaci, případně zpětně určovat příčiny různých havárií.

Cílem této bakalářské práce je popsat základní mikroskopické techniky, které se v materiálovém inženýrství využívají. Základní a nejstarší technikou je světelná mikroskopie, která má však stále své velké uplatnění. Další popsanou technikou bude elektronová mikroskopie, kterou lze rozdělit na transmisní elektronovou mikroskopii (TEM) a skenovací elektronovou mikroskopii (SEM). Elektronová mikroskopie se neomezuje pouze na obraz povrchu vzorků, ale udává také informace např. o prvkovém a fázovém složení vzorku nebo o krystalografické orientaci zrn.

2 MIKROSKOP

Mikroskop je přístroj, který slouží k pozorování malých objektů, jež nejsou pouhým okem viditelné. Vytváří jejich zvětšený obraz. V materiálovém inženýrství je mikroskop užitečným nástrojem pro zobrazení mikrostruktury materiálů. Struktura materiálů je při zkoumání materiálů velmi důležitá, neboť přímo souvisí s jejich užitnými a technologickými vlastnostmi.

2.1 Historie mikroskopu

První jednoduchý světelný mikroskop vznikl v 16. století v Holandsku. Optik Hans Janssen a jeho syn Zacharias zkoumali zvětšující efekt čoček. Dostali nápad složit za sebe konvexní a konkávní čočky a v roce 1590 tak sestavili první světelný mikroskop. Mikroskop obsahoval dvě čočky, čímž se podařilo dosáhnout daleko výraznějšího zvětšení než při použití pouze jedné. V dalších letech byla snaha mikroskop zdokonalit, tedy zlepšit kvalitu obrazu a dosáhnout výraznějšího zvětšení mikroskopu [1].

V roce 1665 vyšla v Londýně kniha s názvem *Micrographia*, jejímž autorem byl britský vědec Robert Hook. V této knize popsal Hook mikroskop, který používal ke svým výzkumům v oblasti biologie. Mikroskop se skládal z objektivu, který byl velice blízko pozorovanému vzorku, okuláru a odděleného osvětlovacího zařízení. V tomto období začal Hook používat svůj mikroskop nejen k biologickému výzkumu, ale začal zkoumat také strukturu kovů. Zájem o pozorování struktury kovových vzorků projeví i další vědci. Například Henry Power zkoumal leštěné vzorky mědi, zlata, stříbra a dalších kovů a objevil nedokonalosti v jejich struktuře – štěrby, kavity, nepravidelnosti atd. [2, 3].

Dalším z těch, kteří přispěli ke zdokonalení mikroskopu, byl holandský obchodník a přírodovědec Antoni van Leeuwenhoek. Jeho mikroskop měl, na rozdíl od Hookova, pouze jednu čočku. Leeuwenhoek však vymyslel kvalitnější výbrus čočky, který umožnil zvětšit pozorovaný objekt až 300x. Toto zvětšení mu umožnilo pozorovat mikroorganismy. Mohl tak být prvním, komu se podařilo mikroorganismy (např. bakterie) zdokumentovat. Leeuwenhoek ovšem také neprováděl výzkum jen na poli biologie, v roce 1708 pozoroval lomový povrch žiletky a zjistil, že se litina skládá z hrubých částic [3, 4].

U složených mikroskopů se výrazně projevovala chromatická aberace, která zhoršovala kvalitu obrazu a rozlišení mikroskopu. Tuto vadu se podařilo omezit použitím chromaticky korigovaných čoček. Tzv. achromatické čočky jsou složeny ze dvou skel s různými disperzními vlastnostmi. Kombinace skel láme paprsky určitých vlnových délek pouze do jednoho místa na optické ose a omezuje tak chromatickou aberaci. Od začátku 18. století se tyto čočky v mikroskopech složených z více čoček začaly běžně používat [2].

Velký skok ve vývoji mikroskopů nastal až v průběhu 19. století. V roce 1846 založil Carl Zeiss v Jeně (Německo) společnost Carl Zeiss, která se začala věnovat výrobě mikroskopů. Pro dílnu společnosti pracoval mimo jiné i Ernst Abbé, jenž vyvinul teorii pro tvorbu obrazu ve světelném mikroskopu. Abbé a Zeiss spolupracovali v Jeně s průmyslníkem Ottou Schottem, majitelem *Jena Glassworks*. Spolupráce této trojice znamenala velký pokrok ve vývoji mikroskopie, společně získali několik grantů v oblasti optiky. Abbé učinil v těchto letech

několik zásadních objevů, sestrojil například Abbého komparátor, vytvořil koncept numerické clony a vynalezl a apochromatické čočky, které redukovaly optické vady mikroskopu. V Německu a ve Velké Británii vzniklo během 19. století mnoho továren vyrábějících a zdokonalujících mikroskopy [3, 5].

Kolem roku 1864 vytvořil Henry Clifton Sorby první náčrtý a tisky (přímo z naleptaného povrchu kovu) mikrostruktury oceli. Sorby ve svých pracích publikoval závěry ohledně struktury a vlastností železa a jeho slitin. Z jeho práce vycházíme dodnes. Ukázal například, že kovy jsou krystalické, že může dojít k rekrytalizaci působením tepla, popsal také strukturní složky oceli. Pro studium tenkých vzorků minerálů byl v roce 1885 představen polarizační mikroskop, jehož autorem byl Ernst Leitz [3].

Další posun v kvalitě obrazu nastal díky Augustu Köhlerovi, který v roce 1893 navrhl nový způsob osvětlení vzorku - tzv. Köhlerovo osvětlení (popsané v kapitole 2.3). Oproti dříve používaným osvětlovacím soustavám zajišťuje Köhlerova konstrukce jasné a rovnoměrné osvětlení vzorku [5].

Rozlišovací schopnost a zvětšení světelných mikroskopů dosáhly v první polovině 20. století svých limitů. Vědci začali uvažovat, jak by se dalo dosáhnout lepšího zvětšení a rozlišení a ve 30. letech byl vyvinut mikroskopu elektronový. U tohoto mikroskopu se místo světelného paprsku k vytvoření obrazu vzorku používá proud elektronů. Zobrazení pomocí proudu elektronů umožnilo dosáhnout daleko vyššího rozlišení a také se výrazně rozšířily možnosti analýzy materiálů. Vynález elektronového mikroskopu však nezpůsobil zánik světelné mikroskopie, ta měla a má i nadále své využití. V následujících letech se tedy paralelně rozvíjela elektronová i světelná mikroskopie [3].

První transmisní elektronový mikroskop sestrojili v roce 1931 na berlínské univerzitě Max Knoll a jeho student Ernst Ruska. V roce 1939 pak začala firma Siemens-Schukert průmyslově vyrábět první transmisní elektronové mikroskopy. Pro použití elektronové mikroskopie u kovů bylo potřeba ztenčit kovovou fólii na tloušťku, kterou by bylo možné prosvětlit elektrony. To se v roce 1949 povedlo Heidenreichovi [6].

Manfred von Ardenne připojil k transmisnímu elektronovému mikroskopu skenovací cívkou a v roce 1938 popsal rastrování u transmisního elektronového mikroskopu. Jeho práce se stala základem pro vytvoření skenovací elektronové mikroskopie. První moderní skenovací elektronový mikroskop vytvořil Vladimir Zworykin se svými kolegy. Konstrukcí skenovacích elektronových mikroskopů se ale na Cambridgeské univerzitě zabýval také prof. C.W. Oatley a jeho student Dennis McMullan. Na základě jejich výzkumu začala společnost Cambridge Scientific Instruments vyrábět první komerční skenovací elektronové mikroskopy [3].

V následujících letech docházelo k vývoji mnoha dalších mikroskopických technik. Například roku 1951 představil ve své doktorské práci Raimond Castaing přístroj pro elektronovou mikroanalýzu pomocí sondy (EPMA – Electron Probe Microanalyser). Ten byl určen pro chemickou analýzu materiálů a vznikl úpravou transmisního mikroskopu. Heinrich Rohrer s Gerdem Binnigem popsali v roce 1981 skenovací tunelovací mikroskop (STM). Za tento vynález oba získali Nobelovu cenu. V roce 1986 se ze skenovací tunelovací mikroskopie vyvinula mikroskopie atomárních sil (AFM) [3].

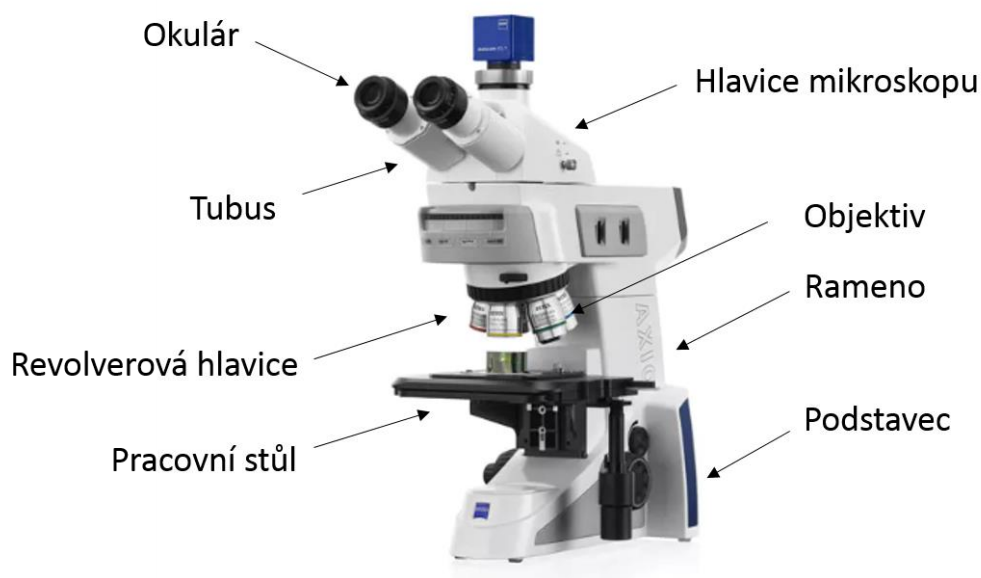
3 SVĚTELNÁ MIKROSKOPIE

Světelná mikroskopie umožňuje pozorovat zvětšený obraz velmi malých objektů. Předměty jsou zobrazovány pomocí světla z viditelného spektra, jehož vlnová délka se pohybuje v rozmezí zhruba 390 nm až 800 nm. I přesto, že se jedná o nejstarší zobrazovací metodu, je světelná mikroskopie stále velmi významným nástrojem pro zkoumání struktury materiálů. Je využitelná také v mnoha dalších oblastech [7].

3.1 Konstrukce světelného mikroskopu

Světelný mikroskop lze rozdělit na tři hlavní části – optickou soustavu, osvětlovací soustavu a mechanické součásti. Na obrázku č. 1 jsou popsány hlavní prvky mikroskopu. Mikroskop na obrázku má tzv. klasické uspořádání. Objektiv se v tomto případě nachází nad stolcem pro vzorek a vzorek je osvětlován pomocí osvětlovací soustavy. Mikroskop na obrázku č. 1 je určený k pozorování v odraženém světle, proto se osvětlovací soustava nenachází dole pod stolcem, jako u klasických mikroskopů určených k pozorování v prošlém světle, ale je zabudovaná ve stojanu mikroskopu. Ostření probíhá pomocí pohybu stolku se vzorkem. Části světelného mikroskopu jsou popsány na obrázku č. 1 a více rozvedeny v následujících kapitolách [5].

V materiálovém inženýrství se hojně používá převrácené uspořádání mikroskopu, tzv. Le Chatelierův typ (na obrázku č. 2). Při takovémto uspořádání se objektiv nachází pod vzorkem a ostření probíhá buď pohybem samotného objektivu, nebo svisle pohyblivého stolku, na kterém je umístěn vzorek. Toto uspořádání usnadňuje přístup ke vzorku a zajišťuje kolmost vybroušené plochy vzorku k objektivům, což zajistí lepší zaostření vzorku [8].



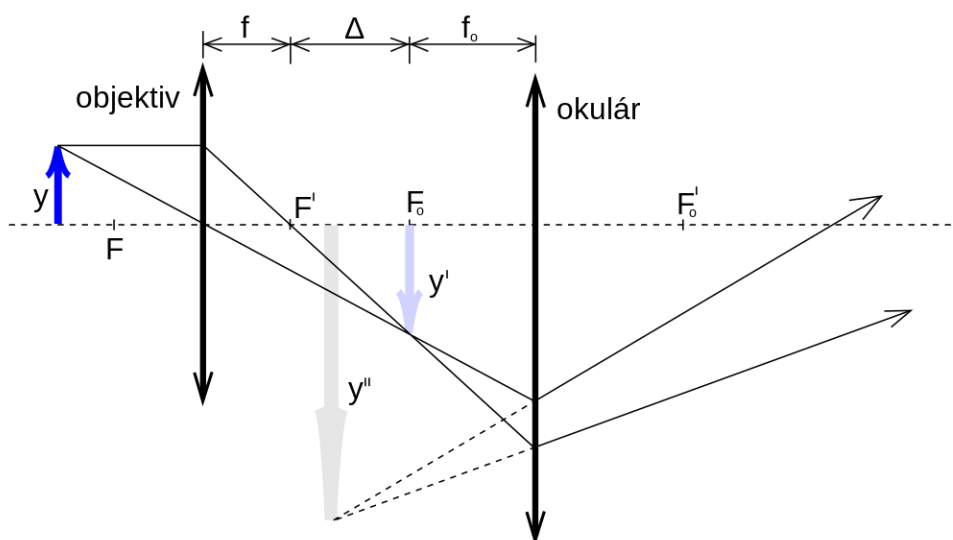
Obr. 1: Základní části mikroskopu. Převzato z [9]



Obr. 2: Převrácené uspořádání mikroskopu. Převzato z [10]

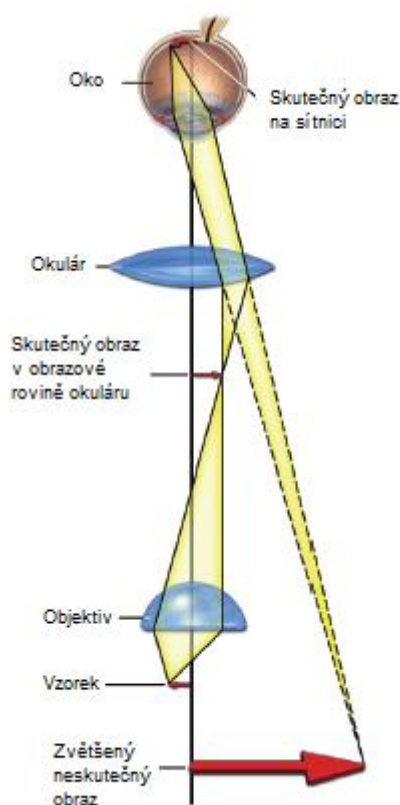
3.2 Optická soustava mikroskopu

Optická soustava světelného mikroskopu má dvě základní části, jsou jimi objektiv a okulár. Jedná se o dvě složité soustavy čoček. Součástí optické soustavy mikroskopu je i kondenzor, který soustřeďuje světelný paprsek ze zdroje na zkoumaný předmět. Princip světelného mikroskopu je znázorněn na obrázcích č. 3 a 4, kde jsou soustavy čoček nahrazeny pouze jednou tenkou spojnou čočkou [5].



Obr. 3: Grafická konstrukce optického zobrazení mikroskopem. Převzato z [11]

Jak je zachyceno na obrázku č. 3 objektiv s okulárem dohromady formují zvětšený obraz. Pozorovaný předmět se umístí za předmiotové ohnisko objektivu (F), ne však do vzdálenosti větší než dvojnásobek ohniskové vzdálenosti ($2F$). Objektiv poté vytváří jeho zvětšený, skutečný a převrácený obraz (y'). Ten se promítá do místa mezi okulárem a jeho ohniskovou rovinou, tedy do předmiotové roviny okuláru. Okulár proto dále zvětšuje skutečný obraz (y') a vytváří zdánlivý, zvětšený a nepřevrácený obraz (y''). Okulár pracuje společně s okem (obrázek č. 4) a vytvoří skutečný obraz na sítnici, který mozek vyhodnotí jako zvětšený neskutečný obraz vzdálený 25 cm od oka [5, 12].



Obr. 4 Skutečný obraz na sítnici. Převzato z [5]

3.3 Osvětlovací soustava

Osvětlovací soustava významně ovlivňuje výslednou kvalitu obrazu. Parametry, na kterých závisí kvalita obrazu, jsou vlnová délka a intenzita světla použitého při osvětlení vzorku, ale také způsob osvětlení pozorovaného objektu.

3.3.1 Kritické osvětlení

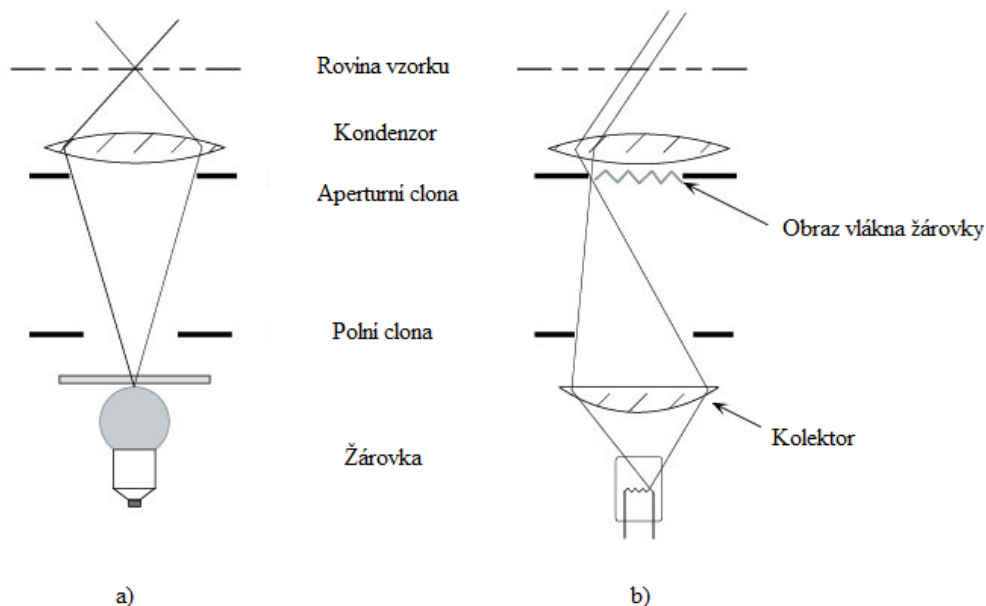
Jednou z možností osvětlení pozorovaného předmětu je tzv. kritické osvětlení, zachycené na obrázku č. 5 a). Paprsky světla se pomocí kondenzoru zaostří přímo do ideální roviny ostrosti vzorku. Ze zdroje prochází světlo přes polní clonu, která omezí jeho rozptyl. Paprsky poté pokračují přes aperturní clonu do čočky zvané kondenzor, který je následně zaostří do roviny vzorku [13].

Při použití kritického osvětlení je vzorek osvětlen nerovnoměrně, neboť se vlákna žárovky promítají přímo do jeho ideální roviny ostrosti. Na konci 19. století August Köhler vymyslel úpravu osvětlovací soustavy tak, aby osvětlení vzorku bylo rovnoměrné a jasné. Köhlerův způsob osvětlení, vysvětlený v dalším odstavci, se používá i v současnosti [3, 5].

3.3.2 Köhlerovo osvětlení

Schéma Köhlerova osvětlení se nachází na obrázku č. 5 b). Hlavním rozdílem mezi kritickým a Köhlerovým osvětlením je, že kužel světla prochází kromě kondenzoru ještě přes kolektor. Paprsky světla vycházející ze zdroje prochází polní clonou, ta odkloní okrajové paprsky světelného kuželu, a světlo dále pokračuje do kolektoru. Kolektor zaostří obraz vlákna

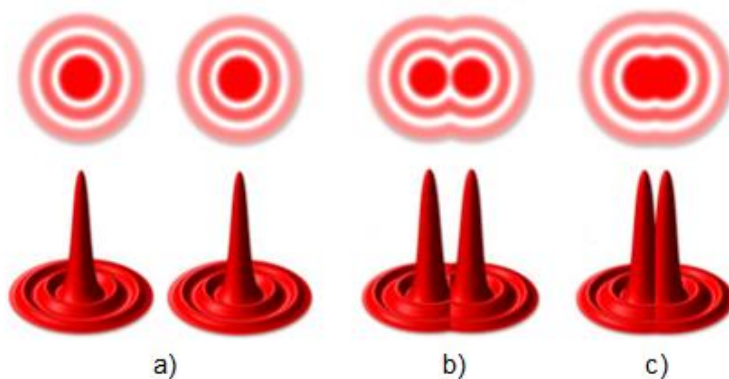
žárovky do roviny aperturní clony, která se nachází v předmětové rovině kondenzoru. Po průchodu kondenzorem jsou paprsky rovnoběžné a dále pokračují do roviny vzorku, kde ho osvětlí. Díky tomu, že paprsky světla dopadají na vzorek paralelně a každý bod zdroje tak osvětluje všechny body vzorku, je osvětlení rovnoměrné a jasné [5, 8].



Obr. 5: a) Kritické osvětlení; b) Köhlerovo osvětlení. Převzato z [14]

3.4 Rozlišovací schopnost mikroskopu

Rozlišovací schopnost mikroskopu je omezena difrakcí světla. Jak je vidět na obrázku č. 6, bod se při průchodu čočkou nikdy nezobrazí jako bod, ale jako rozptylový kroužek s největší intenzitou ve středu. Pokud jsou dva body vzorku velmi blízko sebe, jak vidíme na obrázku č. 6 c), naše oko již tyto body nerozliší a body tak splynou v jeden. Zatímco na obrázcích č. 6 a) i b) jsou body dostatečně vzdálené a pro lidské oko ještě rozlišitelné. Rozlišovací schopnost mikroskopu lze vyjádřit pomocí minimální rozlišitelné vzdálenosti. Pro její definování však musíme znát numerickou aperturu objektivu. Rozlišovací schopnost má také vliv na užitečné zvětšení mikroskopu [12].



Obr. 6: Rozptylové kroužky. Převzato z [15]

3.4.1 Numerická apertura

Numerická apertura je jedním z parametrů objektivu. Je dána jeho konstrukcí a ovlivňuje maximální dosažitelné zvětšení a hloubku ostrosti mikroskopu. Je popsána rovnicí:

$$A = n \cdot \sin \alpha, \quad (1)$$

kde α [°] je poloviční otvorový úhel objektivu a n [-] je index lomu prostředí mezi objektivem a vzorkem. Index lomu je definován jako:

$$n = \frac{c}{v}, \quad (2)$$

přičemž konstanta c [m·s⁻¹] je rychlost světla ve vakuu a v [m·s⁻¹] rychlost světla v jiném prostředí [8, 12].

Objektivy dělíme na suché a imerzní. Suché objektivy jsou takové, kde mezi objektivem a vzorkem je vzduch, a proto $n = 1$. U imerzního objektivu je prostor mezi objektivem a vzorkem vyplněn imerzním olejem s $n > 1$. Imerzní objektivy tedy umožňují díky vyššímu indexu lomu dosáhnout větší numerické apertury objektivu, čímž lze snížit rozlišitelnou vzdálenost mikroskopu [5, 12].

3.4.2 Rozlišitelná vzdálenost

Rozlišitelná vzdálenost je nejmenší vzdálenost dvou bodů, které od sebe při pozorování mikroskopem dokážeme stále ještě zřetelně rozlišit. Jak vyplývá z rovnice č. 3, ovlivňuje tuto vzdálenost numerická apertura a vlnová délka světla, ve kterém pozorujeme vzorek. Vzdálenost d_{min} závisí také na typu osvětlení. Pro kolmé osvětlení – zobrazení ve světlém poli platí:

$$d_{min} = \frac{\lambda}{A}. \quad (3)$$

Pro šikmé osvětlení – zobrazení v tmavém poli platí:

$$d_{min} = \frac{\lambda}{2A}, \quad (4)$$

kde: λ [nm] je vlnová délka světla, A [-] numerická apertura objektivu [12].

3.5 Zvětšení mikroskopu

Celkové zvětšení světelného mikroskopu je dáno zvětšením objektivu a okuláru, společně vytvářejí konečné zvětšení vzorku podle vztahu:

$$Z = Z_{obj} \times Z_{ok}, \quad (5)$$

kde Z je celkové zvětšení, Z_{obj} zvětšení objektivu a Z_{ok} zvětšení okuláru [8].

Zvětšení mikroskopu lze popsat i pomocí ohniskových vzdáleností okuláru a objektivu. Platí pro ně vzorec:

$$Z = \frac{\Delta}{f_{obj}} - \frac{250}{f_{ok}}, \quad (6)$$

kde: Z je celkové zvětšení mikroskopu, f_{obj} [mm] a f_{ok} [mm] jsou ohniskové vzdálenosti objektivu a okuláru, Δ [mm] optická délka tubusu mikroskopu, 250 je normální konvenční zraková vzdálenost 250 mm [12].

3.5.1 Užitečné zvětšení mikroskopu

Zvětšení mikroskopu je omezeno rozlišovací schopností, proto bylo zavedeno užitečné zvětšení mikroskopu. Jedná se o zvětšení, při kterém jsme ještě schopni pozorovat nové detaily. Pokud se zvětšení pohybuje mimo meze užitečného zvětšení, není již účinné při zobrazování detailů. Ernst Abbé zavedl vztah pro užitečné zvětšení na základě jeho teorie o principu vzniku obrazu v mikroskopu. Podle Abbého je užitečné zvětšení definováno jako:

$$Z_{užitečné} = \frac{d_{ok}}{d_{min}}, \quad (7)$$

kde d_{ok} [mm] je vzdálenost rozlišitelná lidským okem a d_{min} [mm] minimální rozlišitelná vzdálenost objektivu. Lidské oko je při pozorování ze vzdálenosti 250 mm schopno rozlišit dva body vzdálené od sebe přibližně 300 μ m. Pokud bychom dosadili do vzorce hodnoty pro modré světlo s vlnovou délkou přibližně 400 nm a uvažovali šikmé osvětlení vzorku, vyjde nám maximální užitečné zvětšení $Z_{užitečné,max} = 1500 \cdot A$, kde A [-] je numerická apertura. Pro kolmé osvětlení pak vychází $Z_{užitečné,max} = 750 \cdot A$ [5, 16].

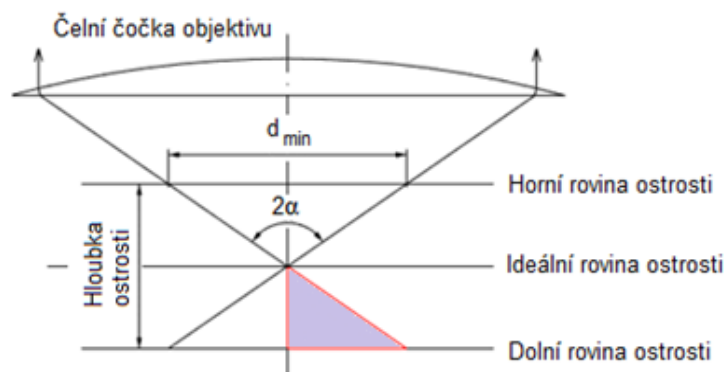
Pro celkové užitečné zvětšení bylo vyvinuto Abbého pravidlo. Celkové užitečné zvětšení je dle Abbého pravidla:

$$Z_{celk.už.} = (500 \text{ až } 1000) \cdot A. \quad (8)$$

Pokud překročíme limit celkového užitečného zvětšení – tzn. $Z_{celk.} > 1000 \cdot A$, dostaneme prázdné či abnormální zvětšení. Při prázdném zvětšení již nepozorujeme nové detaily, ale pouze zvětšený obraz. Naopak pokud se celkové zvětšení pohybuje v intervalu $Z_{celk.} = (250 \text{ až } 500) \cdot A$, dostáváme minimální zvětšení. Toto zvětšení není dostatečné pro zobrazení nových detailů [5, 16].

3.6 Hloubka ostrosti objektivu

Hloubka ostrosti H [μ m] je vzdálenost dvou rovin, mezi nimiž je pozorovaný objekt viditelný ostře. Závisí na vstupním úhlu 2α [°] a minimální rozlišitelné vzdálenosti d_{min} [μ m], Závislost vidíme na obrázku č. 7 [12].



Obr. 7: Schéma pro výpočet hloubky ostrosti. Převzato z [12]

Z obrázku č. 7 lze odvodit vztah pro hloubku ostrosti [12]:

$$H = \frac{d_{\min}}{\tan \alpha}. \quad (9)$$

Tři příklady, jaké hloubky ostrosti lze dosáhnout u suchých objektivů, jsou uvedeny v tabulce č. 1. Hloubka ostrosti je počítána pro vlnovou délku $\lambda = 500 \text{ nm}$.

Tabulka 1: Hloubka ostrosti pro suché objektivy

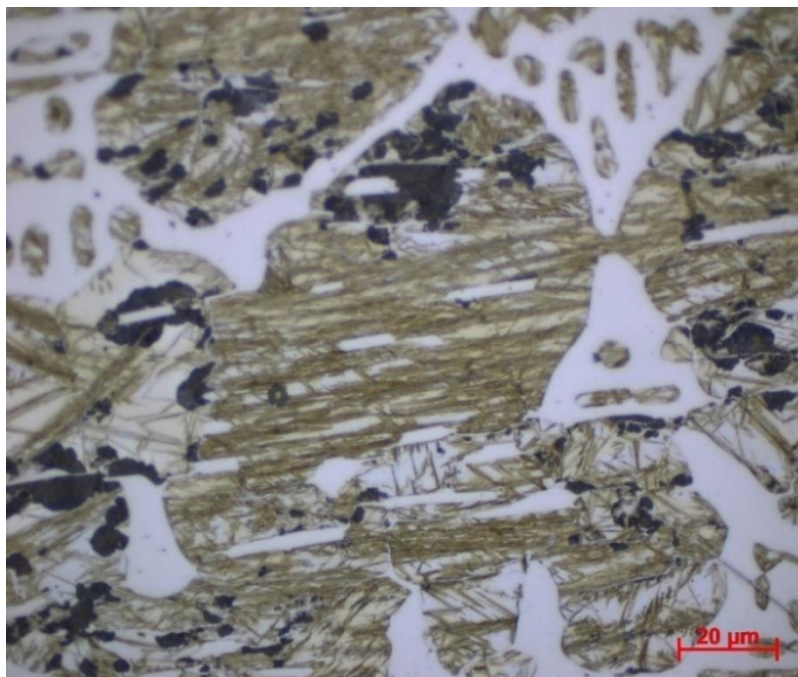
Zvětšení	Numerická apertura [-]	Výstupní úhel α [°]	Rozlišitelná vzdálenost [μm]	Hloubka ostrosti [μm]
10×	0,2	12°	2,5	11,8
20×	0,5	30°	1	1,7
50×	0,85	58°	0,6	0,37

Hloubka ostrosti je limitující hodnotou pro kvalitu povrchu vzorku. Povrch vzorku musí být upraven tak, aby povrchový reliéf nepřekračoval hloubku ostrosti. Části reliéfu vzorku, které neleží mezi horní a dolní rovinou ostrosti, budou rozostřené [12].

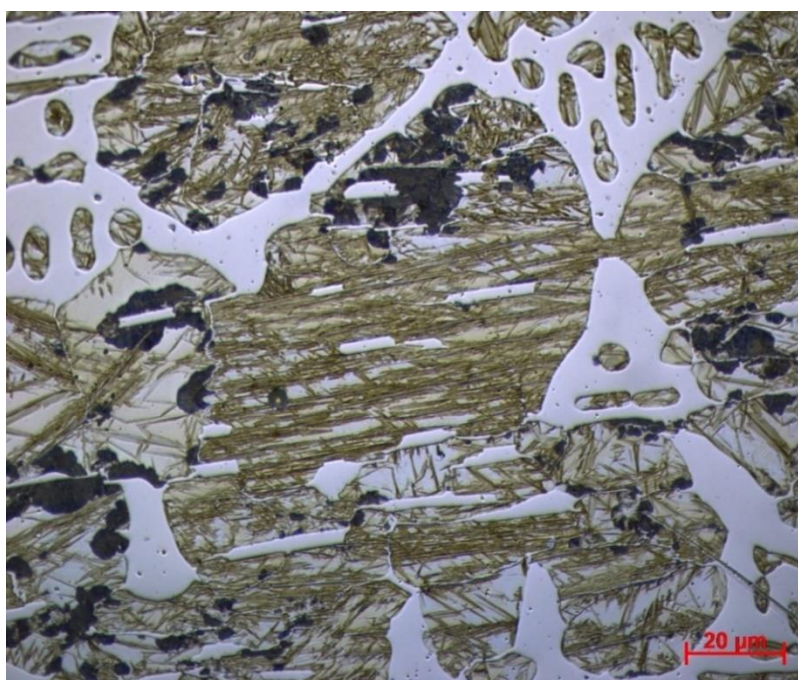
Ze vzorce vyplývá, že jednou z možností, jak dosáhnout větší hloubky ostrosti, je v první řadě zmenšení otvorového úhlu objektivu. Zmenšování otvorového úhlu objektivu pomocí clony je však spojeno s poklesem rozlišovací schopnosti mikroskopu. Při menším otvorovém úhlu přijímá objektiv méně světla odrážejícího se od vzorku než při velkém otvorovém úhlu. Čím více světla ale objektiv přijme z určitého strukturního detailu, tím lépe ho zobrazí. Při malé apertuře dochází také k výrazné difrakci světla, neboť světlo prochází malým otvorem. Difrakce také negativně ovlivňuje ostrost výsledného obrazu [12, 17].

Zvětšení hloubky ostrosti zmenšením otvorového úhlu dokumentují obrázky č. 8 a 9. Jedná se o zobrazení bílé litiny světelným mikroskopem Zeiss Axio Observer Z1m při zvětšení

1000 \times . Na obrázku č. 8 je vzorek zobrazen při plné apertuře (maximální otvorový úhel) a na obrázku č. 9 při minimální apertuře (minimální otvorový úhel). U minimální apertury je hloubka ostrosti mnohem větší, a proto se daří ostře zobrazit celý povrch vzorku. Zobrazení detailů struktury je však ovlivněno nárůstem minimální rozlišitelné vzdálenosti a difrakcí světla.

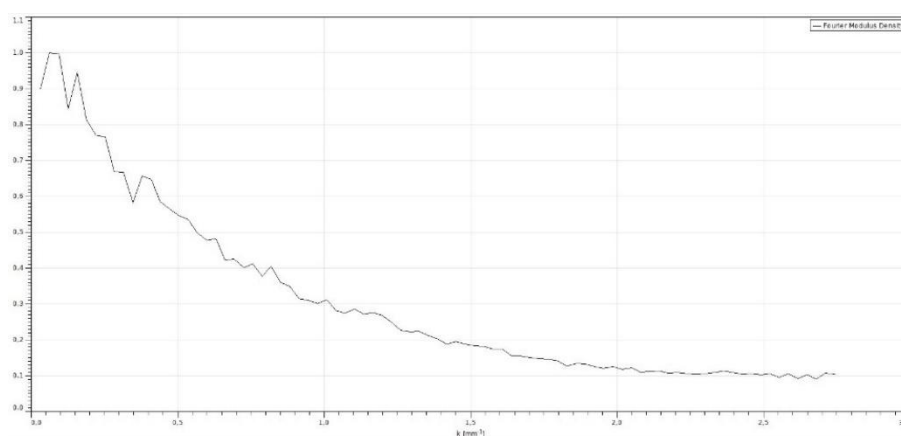


Obr. 8: Hloubka ostrosti při plně otevřené apertuře

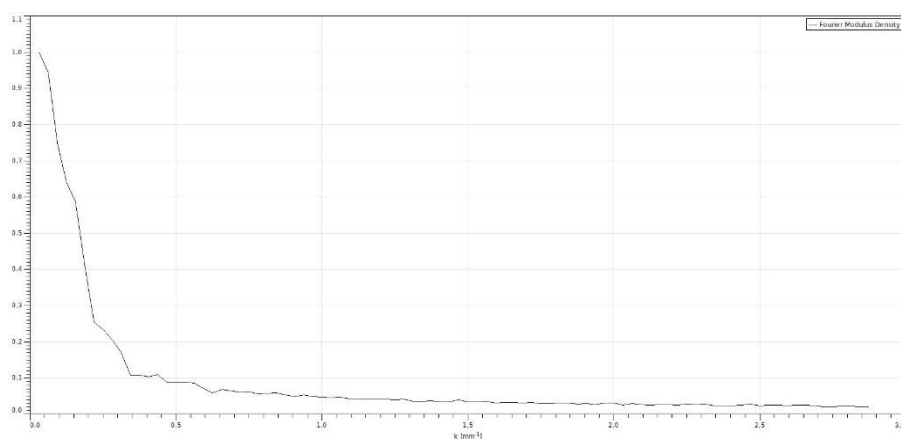


Obr. 9: Hloubka ostrosti při minimální apertuře

Větší hloubky ostrosti lze dosáhnout také použitím metody proostřování obrazu. Tato metoda využívá několik snímků daného vzorku k sestavení jednoho výsledného obrazu s větší hloubkou ostrosti, než by bylo možné fyzikálně dosáhnout v jednom snímku. U metody proostřování obrazu se využívá Fourierova transformace. Každý obraz lze složit z nekonečného počtu harmonických funkcí o různých frekvencích. V zaostřených částech obrazu jsou zastoupeny všechny frekvence a jejich četnost s rostoucím vlnočtem postupně klesá, zatímco v rozostřených částech obrazu jsou více zastoupeny nižší frekvence a s rostoucím vlnočtem jejich počet výrazně klesá. Tento jev je zobrazen na obrázcích č. 10 a 11.



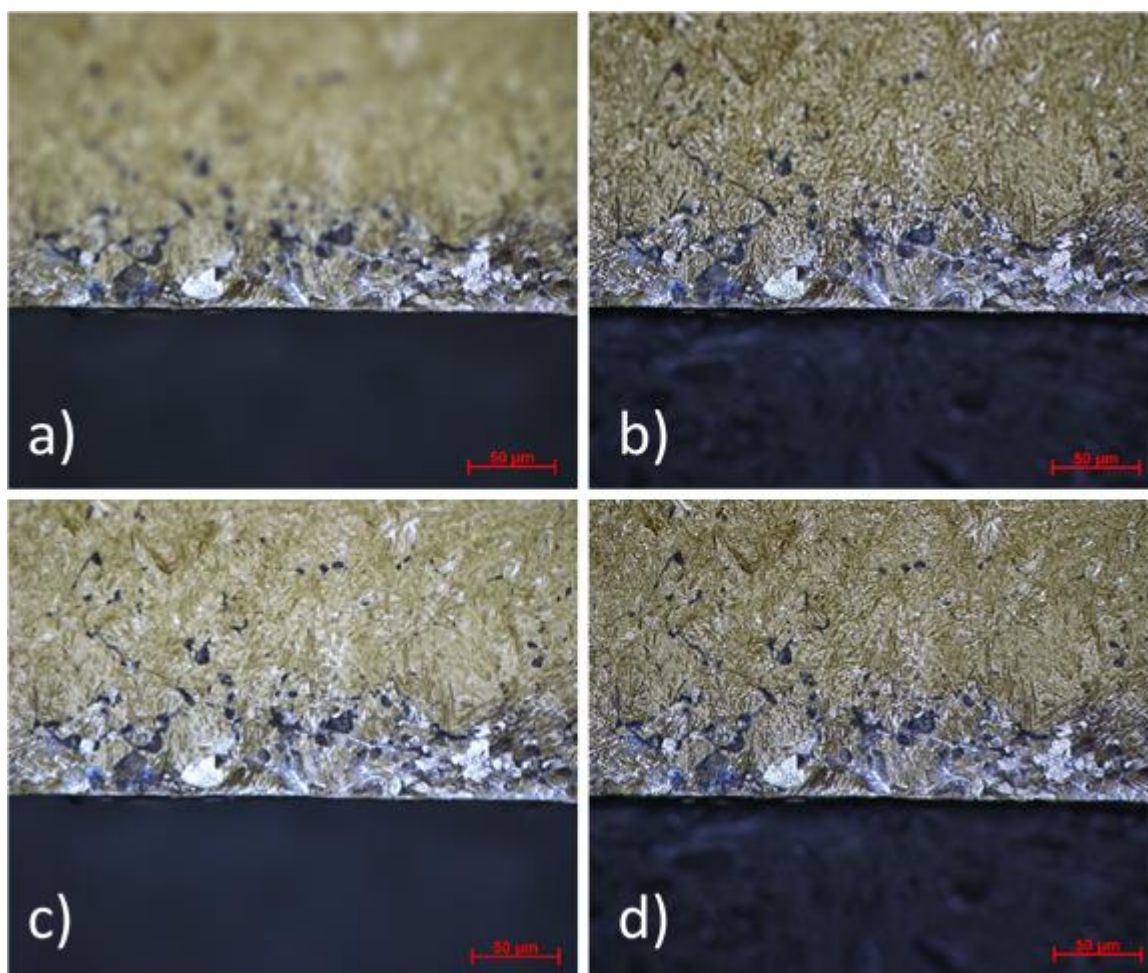
Obr. 10: Závislost normalizované intenzity FFT transformace (Fourier Modulus Density) na vlnočtu k [mm^{-1}] zaostřené části obrazu



Obr. 11: Závislost normalizované intenzity FFT transformace (Fourier Modulus Density) na vlnočtu k [mm^{-1}] rozostřené části obrazu

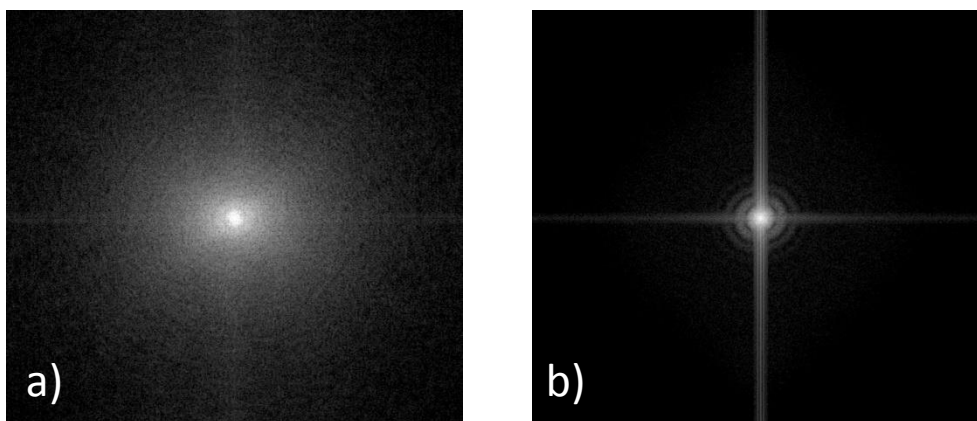
Mikroskop udělá několik snímků povrchu odstupňovaných po nastavené délce v axiálním směru. Počítač následně provede Fourierovu analýzu nasnímaných obrazů a vybere z každého snímku oblasti, které vykazují vlastnosti zaostřeného obrazu. Tyto části následně složí do jednoho výsledného obrazu. Metodou proostřování můžeme dosáhnout mnohonásobně větší hloubky ostrosti než při běžném zobrazení a současně zachovat ostrost a kvalitu obrazu.

Porovnání metody proostřování s běžným pozorováním s plnou a malou aperturou je na obrázku č. 12. Na všech obrázcích je zachycen okraj vzorku bílé litiny zobrazený světelným mikroskopem Zeiss Axio Observer Z1m při zvětšení 500×. Na obrázku č. 12 a) je zobrazen vzorek při plné apertuře. Zvýšení hloubky ostrosti uzavřením clony na minimální hodnotu je zachyceno na obrázku č. 12 b). Výrazné vylepšení hloubky ostrosti je patrné na obrázcích č. 12 c) a 12 d), kdy byla použita metoda proostřování, nejdříve při plné apertuře a následně při apertuře minimální.



Obr. 12: a) Plná apertura; b) Malá apertura; c) Proostřování s plnou aperturou; d) Proostřování s malou aperturou

Na vybraných oblastech snímku č. 12 a) byla provedená rychlá Fourierova analýza (FFT). Na obrázku č. 13 je zachyceno frekvenční spektrum ostré a rozostřené části obrazu. Frekvenční spektrum těchto oblastí se výrazně liší. U rozostřeného obrazu jsou potlačeny vyšší frekvence a daleko více jsou zastoupeny frekvence nižší.



Obr. 13: Frekvenční spektrum FFT a) ostrá část snímku, b) rozostřená část snímku

3.7 Vady čoček

Na kvalitu výsledného obrazu má významný vliv optická soustava mikroskopu. U čoček se vyskytují vady, které ovlivňují výsledný obraz. Používají se proto různé typy objektivů, každý z nich je uzpůsobený tak, aby určité vady korigoval. Úpravou objektivu však není možné vady odstranit úplně. Vady čoček jsou totiž spolu navzájem propojené – pokud se výrazně omezí jedna vada, většinou vynikne jiná. Při korekci optických vad je proto nutné hledat kompromis pro zachování co nejčistšího výsledného obrazu. V dalších odstavcích budou zmíněny nejčastější vady optických soustav [5].

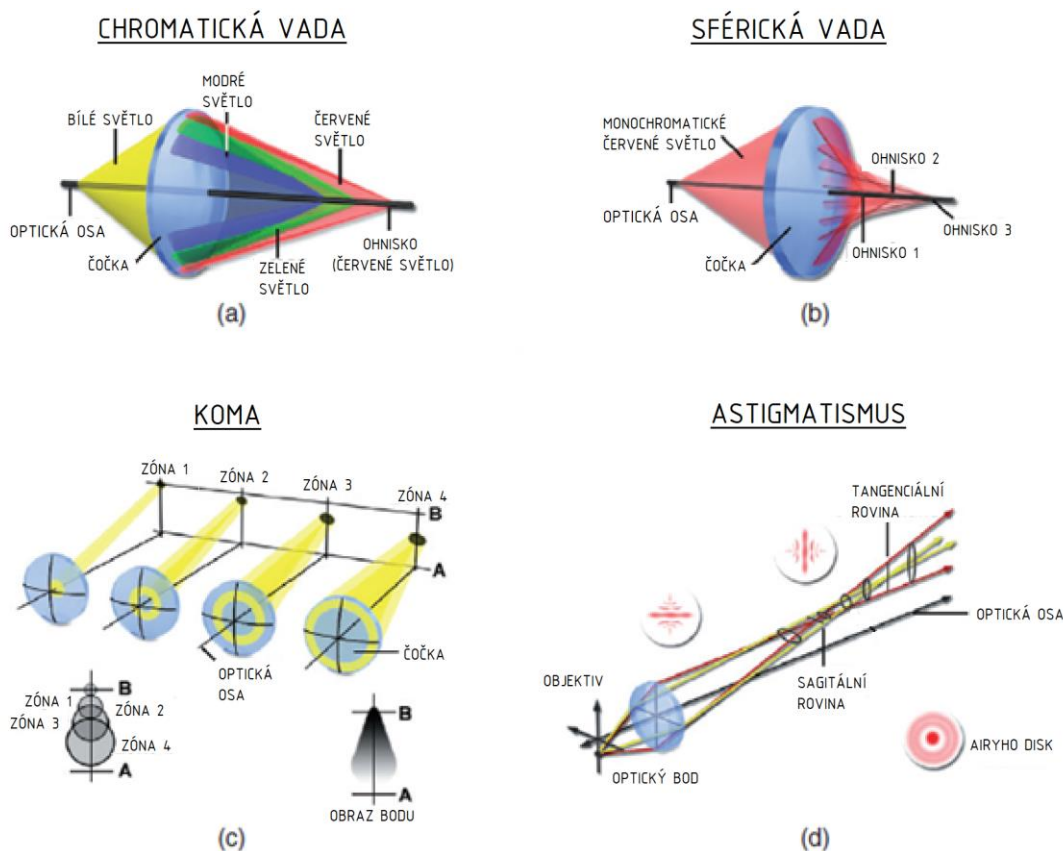
Chromatická vada čočky vzniká v důsledku rozdílného úhlu lomu paprsků světla. Pod jakým úhlem se paprsek zalomí totiž závisí na jeho vlnové délce. Bílé světlo, které je složeno z různých vlnových délek, se při průchodu čočkou rozloží na základní barvy. Každá z barev má jinou vlnovou délku, a proto se zalomí pod jiným úhlem a protne optickou osu v jiném místě. Místo jednoho ohniska jich vznikne hned několik, jak je vidět na obrázku 14 a). Modré světlo se láme pod nejmenším úhlem, má tedy nejkratší ohniskovou vzdálenost. Největší ohniskovou vzdálenost má naopak světlo červené. Chromatická vada čočky způsobí, že se kolem každého bodu tvoří barevné halo, výsledný obraz je barevně lemován a není ostrý. Redukce chromatické vady se provádí vhodnou kombinací čoček s různými disperzními vlastnostmi. Používá se například achromatická čočka složená z rozptylky z flintového skla a spojky z korunového skla. Tato kombinace zajistí zaostření paprsků světla o dvou různých vlnových délkách do jednoho ohniskového bodu [5, 16].

Příčinou *sférické (otvorové) vady* čočky je sférický povrch čočky, tedy jiná tloušťka ve středu a na okrajích. Čím větší je vzdálenost paprsku od optické osy čočky, tím blíže k čočce paprsek protne optickou osu, jak je vidět na obrázku č. 14 b). Paprsky procházející čočkou proto

neprotínají optickou osu v jednom bodě. V důsledku tohoto jevu je obrazem bodového zdroje světla bod obklopený prstenci světla (rozptylový kroužek). Výsledný obraz je protažený ve směru osy a není ostrý. Sférickou vadu čočky lze omezit použitím clony, čímž se zúží osvětlovaná plocha, případně použitím čoček různé tloušťky [5, 16].

Koma je optická vada, která se objeví, pokud osvětlujeme vzorek paprsky, které nejsou rovnoběžné s optickou osou. Na obrázku 14 c) je znázorněno, že takto zobrazené body se promítají jako obrazce podobné kometám. Paprsky procházející dále od optické osy čočky se zaostří do jiného místa než paprsky, které jdou středem čočky. Koma se výrazně projevuje u objektivů s velkými otvorovými úhly [5].

Astigmatismus, zachycený na obrázku 14 d), vzniká v důsledku různé tloušťky čočky. Objevuje se při zobrazení bodů, které přímo neleží na optické ose čočky. Paprsky jdoucí ve dvou kolmých rovinách k optické ose se promítají do dvou různých ohniskových rovin. Bodový objekt je proto zobrazen jako dva krátké pruhy, které se objeví jako kruhové objekty okolo daného bodu. Pokud zobrazujeme rovinu kolmou k optické ose, je jejím obrazem zakřivená plocha. Obraz je v důsledku této vady deformovaný a neostrý. S astigmatismem souvisí i *zklenutí pole*, při kterém není obrazová rovina kolmá, ale je zakřivená. Obraz tak nelze zcela zaostřit celý najednou [5].



Obr. 14: a) Chromatická vada; b) Sférická vada; c) Koma; d) Astigmatismus. Převzato z [5]

Podle korekce na optické vady rozlišujeme několik druhů objektivů, které jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Typy objektivů [16]

Typ objektivu	Korekce na chromatickou vadu	Korekce na sférickou vadu	Astigmatismus
Achromát	2 barvy (červená a modrá)	1 barva (žluto-zelená)	ne
Apochromát	3 barvy	2 barvy	ne
Planachromát	zhoršení	dokonale	ne
Planapochromát	ano	ano	ano

3.8 Příprava vzorků

U světelné, ale i elektronové mikroskopie velice záleží na tom, jak bude připraven vzorek, který se chystáme pozorovat. Příprava metalografických vzorků v materiálovém inženýrství má jasná pravidla. Základním cílem je, aby nedošlo ke změně či ovlivnění struktury během přípravy vzorku. V metalografii se používají výbrusy, aby byla zviditelněna struktura materiálů. Příprava vzorku probíhá dle následujících bodů [12]:

- 1) Odběr vzorku
- 2) Označení
- 3) Hrubé broušení
- 4) Preparování vzorku
- 5) Broušení
- 6) Leštění
- 7) Vyvolání struktury leptáním

Prvním bodem přípravy je výběr místa odběru vzorku. Místo odběru musí být vybráno tak, aby co nejlépe reprezentovalo celkovou strukturu objektu. Důležitým faktorem je také způsob odběru vzorku, při kterém nesmí dojít k jeho poškození (plastické deformaci), ani změně struktury. Vzorek nesmí být v průběhu odběru příliš zahřátý, aby neproběhla fázová přeměna. V případě, že není vzorek homogenní, odeberou se vzorky na více místech. Odběr vzorku probíhá většinou řezáním, odfrézováním, nebo odlomením a následuje rozřezání na požadovanou velikost. Kromě destruktivního odběru vzorku, kdy se naruší povrch daného objektu, existují také nedestruktivní metody zkoumání povrchu. Výbrus je pak proveden přímo na daném výrobku (in situ). Vzorek musí být po odběru řádně označen [8, 12].

Po odběru a označení vzorku přichází na řadu hrubé broušení, při kterém je vzorek zarovnan do plochy. Následuje preparace vzorku. V případě, že má vzorek menší rozměry, zalévá se do pryskyřice, aby se usnadnilo broušení a leštění. Je tak zachován i jednotný rozměr vzorků. Zalévání může proběhnout za studena i za tepla, důležité je, aby nedošlo k ovlivnění struktury. Vzorek se umístí do rámečku na skleněné desce a zaleje se samovytvrditelnou pryskyřicí. Pokud u vzorku nehrozí poškození vysokou teplotou a tlakem, může být také zalisován za tepla do umělých pryskyřic [8, 12].

Po preparaci vzorku přichází na řadu opět broušení. Postupuje se od hrubého broušení až k jemnému. Cílem je dosáhnout dokonale rovného, rovnoměrně drsného povrchu s minimem nerovností. Často se používá broušení za mokra, kdy je vodou chlazen povrch vzorku, což zabraňuje změnám struktury, a odplavují se tak odstraněné částice materiálu. Broušení probíhá pomocí brusných papírů, past, či suspenzí. Lze ho provádět ručně, mechanizovaně, poloautomaticky i automaticky na metalografických bruskách. Nejčastěji používaným abrazivem je karbid křemíku, který se nanese se suspenzí na plátěnou nebo papírovou podložku [8, 12].

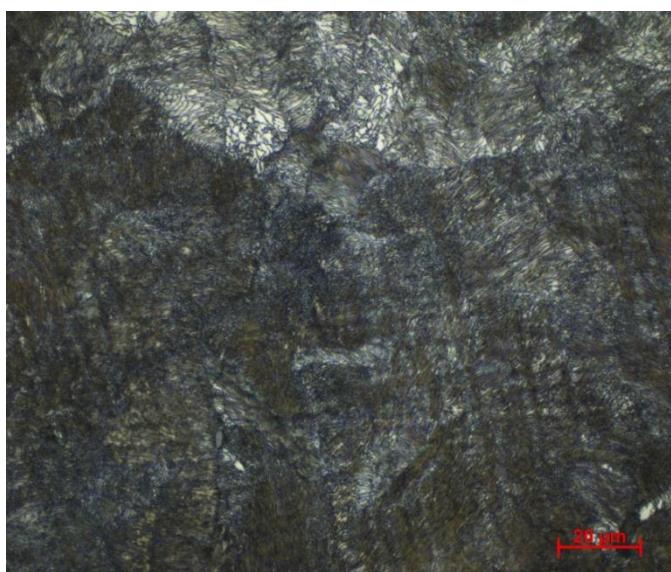
Dalším krokem je leštění vzorku. Při leštění mizí rýhy po broušení a zůstává kvalitní zrcadlový povrch. Leštění lze provádět mechanicky, elektrolyticky, chemicky, nebo kombinací těchto technik. Při mechanické leštění je na litinový kotouč, případně na kotouč potažený tkaninou, nanesen leštící přípravek a následně je upravován povrch vzorku. Materiál již není odebírán, dochází pouze k zarovnání povrchového reliéfu. Při elektrolytickém leštění je vzorek zapojen do elektrolytického obvodu a plní funkci anody. Při zapojení proudu se na jeho povrchu vytvoří reakční vrstva. Proud, který protéká vzorkem, má největší hustotu na nerovnostech reliéfu, proto se tyto nerovnosti rozpouštějí a vzniká tak hladký povrch. Na obdobném principu je pak založeno chemické leštění, ovšem bez přístupu elektrického proudu. Na nerovnostech vznikají elektrochemické mikročlánky, které zajišťují odběr materiálu. V průběhu broušení a leštění vznikne na povrchu vzorku vrstva materiálu, který je plasticky zdeformovaný (Beilbyho vrstva). Její tloušťka závisí na daném materiálu a podmínkách při broušení a leštění. Tato vrstva komplikuje pozorování struktury, lze ji však omezit dostatečným chlazením [8, 12].

Po leštění je povrch vzorku sice zrcadlově hladký, ale pro lepší pozorování je nutné opět vyvolat mikrostrukturu materiálu. Pro tyto účely se použije leptání vzorku. Použitá technika leptání a druh leptadla závisí na materiálu vzorku a na technice použité k jeho pozorování. Existuje několik typů leptání povrchu, a to chemické, elektrolytické a tepelné. U chemického leptání působí na vzorek chemické leptadlo a struktura je vyvolána rozdílnou rozpustností jeho strukturních složek. Dojde tak ke zviditelnění těchto složek, případně ke vzniku chemických reakčních zplodin. Elektrolytické leptání funguje na stejném principu jako elektrolytické leštění. Nejdříve se odleptávají oblasti méně odolné proti elektrochemickému procesu (např. hranice zrn). Při tepelném leptání se na povrchu vzorku vytvoří oxidická vrstva, jejíž tloušťka závisí na schopnosti oxidace jednotlivých částí. Oxidický povlak s danou tloušťkou propouští pouze určité vlnové délky světla. Od míst se slabším povlakem se tedy světlo odráží jinak než od míst s větší vrstvou povlaku. Zrna jsou tak od sebe barevně odlišena [12, 18].

Leptání lze také rozdělit na leptání na hranice zrn, plošné a selektivní. U leptání na hranice zrn se samotná zrna odleptávají pomaleji než jejich hranice, proto dojde k jejich zviditelnění. Při plošném leptání dochází ke vzniku reliéfu díky rozdílné leptatelnosti jinak orientovaných krystalografických zrn. Při selektivním leptání závisí tloušťka odleptané vrstvy na odolnosti různých strukturních součástí proti leptání. Leptadlo může na povrchu vytvořit oxidickou vrstvu, princip je poté stejný jako u tepelného leptání [12, 18].

3.9 Limity světelného mikroskopu

Velikost detailů, které je možné pozorovat světelným mikroskopem, závisí na minimální rozlišitelné vzdálenosti mikroskopu. Tuto vzdálenost limituje vlnová délka světla a numerická apertura objektivu (viz. rovnice 3 a 4). Pro zobrazení co nejmenších detailů potřebujeme co nejmenší vlnovou délku světla a co největší numerickou aperturu objektivu. Nejmenší vlnové délky dosáhneme pozorováním ve fialovém světle (vlnová délka přibližně 390–430 nm). Lepšího zobrazení detailů při stejné apertuře i vlnové délce lze pak docílit při pozorování v tmavém poli. Limit maximálního rozlišení, kterého je světelný mikroskop schopen dosáhnout, je přibližně 220–500 nm. Maximální zvětšení se pak pohybuje okolo hodnoty 2000 \times . Za další z nevýhod, potažmo limitů světelné mikroskopie lze považovat fakt, že u materiálů, které nepropouští světlo (kovy, keramika a část polymerů), můžeme pozorovat pouze povrch materiálu. Světlo totiž není schopné proniknout přes daný materiál. K tomu abychom dokázali kvalitně zobrazit strukturu materiálu musí být vzorek kvalitně připraven, měl by být hladký a ideálně rovný. Na obrázku č. 15 je zobrazena ocel o eutektoidním složení, která má perlitickou strukturu. U tohoto vzorku jsou lamelky perlitu od sebe vzdáleny přibližně 100 nm. Strukturní detaily jsou zde hluboko pod rozlišovací mezí optického mikroskopu a mikroskop zde tak dosáhl svého limitu, neboť z obrázku nejsou patrné téměř žádné detaily struktury [7, 19].



Obr. 15: Struktura eutektoidní oceli při zvětšení 1000 \times zobrazené mikroskopem Zeiss Axio Observer Z1m

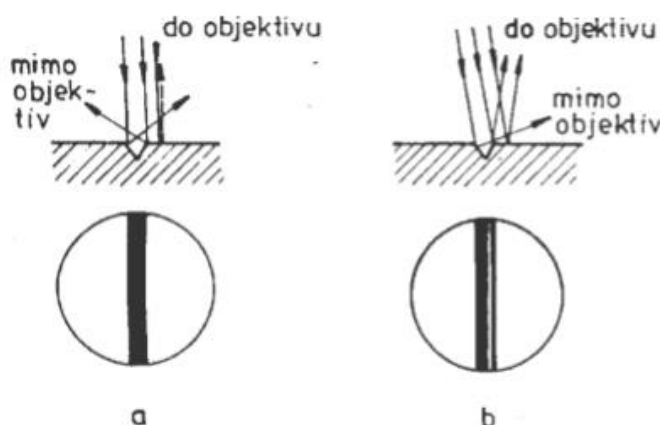
3.10 Zobrazovací metody

Při zobrazování struktury jsou důležitými faktory ovlivňujícími výslednou kvalitu obrazu jak světlo, odražené od strukturních detailů, tak i dostatečný kontrast. Kontrastní je obraz díky tomu, že se od různých částí struktury vzorku světlo odráží jinak. Povrch vzorku proto musí být vyleštěný a následně se leptá, aby se vyvolala struktura materiálu. Obraz struktury lze vytvořit pomocí různých zobrazovacích metod, popsanych dále. Každá z metod je vhodná pro jiný typ vzorků [12].

3.10.1 Zobrazení ve světlém poli

Zobrazení ve světlém poli je jednou z nejpoužívanějších metod ve světelné mikroskopii. Při zobrazení ve světlém poli se světlo z iluminátoru odráží od planoparalelní desky do objektivu. Paprsky světla se objektivem šíří rovnoběžně s optickou osou mikroskopu. Objektivem světlo projde a dopadá kolmo na povrch vzorku. Od vzorku se paprsky světla, které dopadnou na kolmé plochy, odráží zpět do objektivu. Naopak paprsky, které dopadnou na šikmé plochy vzorku, se odráží mimo objektiv. Z tohoto důvodu se šikmé plochy (např. hranice zrn) ve výsledném obrazu jeví jako tmavé a rovné plochy naopak jako světlé. Schéma metody je uvedeno na obrázku č. 16 a) [5, 12, 13].

Jak lze vidět na obrázku č. 16 b), zobrazení ve světlém poli může být provedeno i pomocí šikmého osvětlení přes objektiv, a to buď jednostranného, nebo všestranného. U jednostranného šikmého osvětlení se světlo odráží od odrazového hranolu se zrcadlovou plochou do objektivu a následně dopadá na vzorek. U všestranného šikmého osvětlení je použita prstencová clona, která zastíní střední část osvětlovacího svazku. V případě šikmého osvětlení se paprsky od rovin kolmých na směr jejich dopadu odrážejí zpět do objektivu a od rovin šikmých částečně do objektivu částečně mimo něj. U tohoto zobrazení lze dosáhnout vyššího kontrastu. Na obrázku č. 18 se nachází srovnání metod světelné mikroskopie, zobrazení ve světlém poli je zachyceno na obrázku č. 18 a) [12].



Obr. 16: a) Pozorování kolmými paprsky; b) Pozorování šikmými paprsky. Převzato z [12]

3.10.2 Zobrazení v tmavém poli

Zobrazení v tmavém poli se liší od zobrazení v poli světlém tím, že paprsky světla dopadající na vzorek neprocházejí přes objektiv. Světlo z iluminátoru se odráží od kovového zrcadla a dále dopadá na paraboloidní kondenzor. Paprsky odražené z kondenzoru dopadají pod šikmým úhlem na vzorek, jak je vidět na obrázku č. 17. Od vodorovných ploch vzorku se paprsky odrážejí mimo objektiv, od šikmých se odráží do objektivu. Rovné plochy se tedy jeví jako tmavé a z obrazu vystupují světlé nerovnosti jako jsou hranice zrn a kontury vměstků. Zobrazení v tmavém poli je pro pozorování detailů struktury výhodnější než zobrazení v poli světlém, neboť rozlišovací vzdálenost při zobrazení šikmými paprsky je o polovinu menší.

Příklad zobrazení v tmavém poli se nachází na obrázku č. 18 b), při porovnání se zobrazením ve světlém poli vystupují z obrazu mnohem zřetelněji vměstky v materiálu, poškození a škrábance [5, 12, 13].



Obr. 17: Pozorování v tmavém poli. Převzato z [12]

3.10.3 Polarizační mikroskopie

Polarizační mikroskopie využívá toho, že se světlo šíří jako elektromagnetická vlna. Vektory intenzity elektrického a magnetického pole nepolarizovaného světla kmitají ve všech rovinách kolmých ke směru šíření. Při použití polarizátoru světlo kmitá pouze v jedné rovině kolmé na směr šíření. Polarizační mikroskopie nachází uplatnění v metalografii. S její pomocí lze určovat krystalografickou orientaci zrna. Používá se také při studiu plastické deformace a identifikaci vměstků v materiálu. [5, 8].

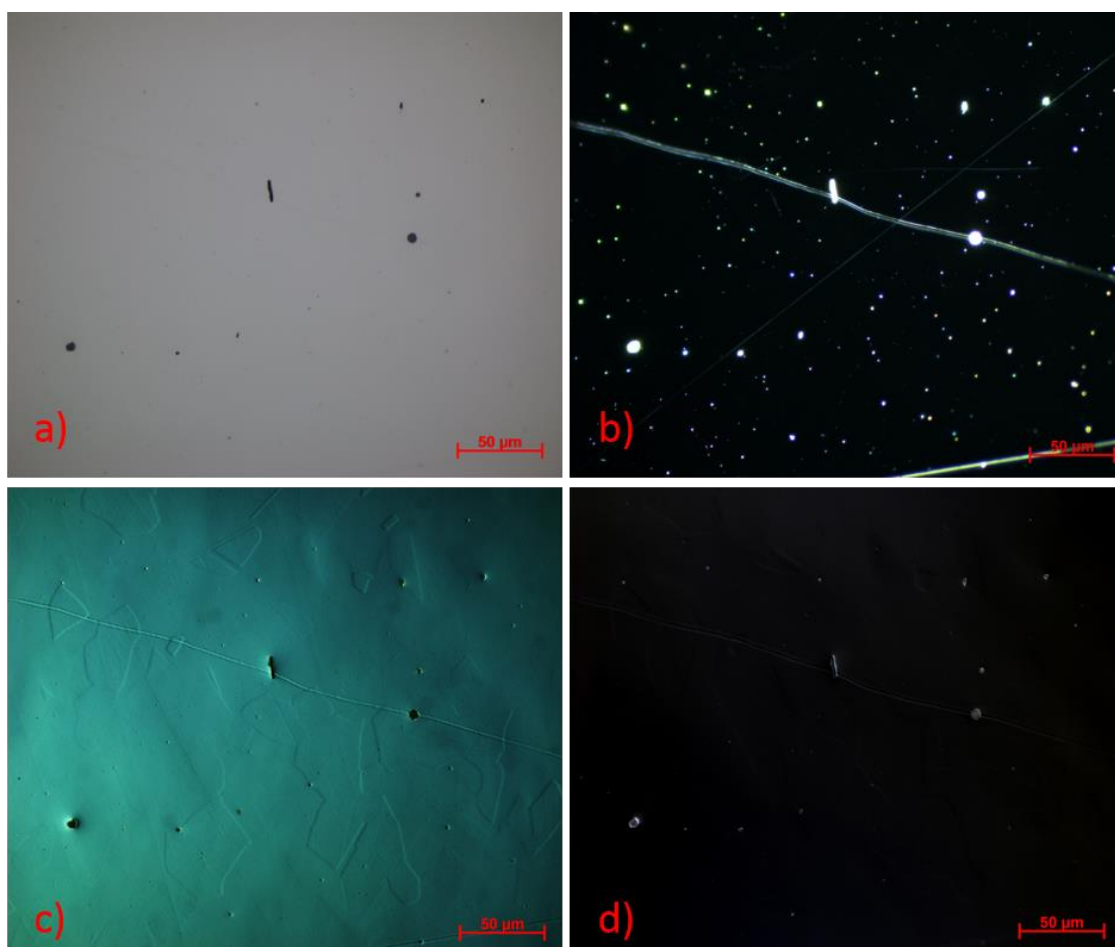
K polarizaci světla slouží filtr zvaný polarizátor, který je umístěný v optické ose mikroskopu mezi zdrojem světla a vzorkem. Kromě polarizátoru je v optické ose mikroskopu za objektivem umístěn další filtr zvaný analyzátor. Jeden z těchto filtrů bývá otočný. Pokud je nastaven úhel mezi nimi na 90° , pak polarizátor a analyzátor mají na sebe navzájem kolmé polarizační roviny. Polarizátor světlo polarizuje do jedné roviny a analyzátor následně světlo pohltí, výsledkem je tedy tmavé pole. Vzorek, který má polarizační vlastnosti a leží mezi polarizátorem a analyzátozem, zalomí polarizační rovinu. Plochy vzorku, které změni směr polarizace, se proto ve výsledném obrazu jeví jako světlé. Opticky izotropní materiály s kubickou mřížkou jsou jednolomné, proto ve výsledném obrazu zůstávají tmavé. Anizotropní materiály jsou naopak dvojlomné, změni tedy orientaci polarizační roviny a v obrazu se jeví jako světlé. Tento typ polarizace je zachycen na obrázku č. 18 d). Díky otáčení analyzátoru a polarizátoru vůči sobě můžeme osvětlovat vzorek pod různými úhly a pozorovat jeho optické vlastnosti. Pozorování vzorku při natočení polarizátoru a analyzátoru pod obecným úhlem lze vidět na obrázku č. 18 c). Při polarizaci pod obecným úhlem se zvýrazní detaily struktury a také případné vměstky. Jak je vidět při porovnání na obrázku č. 18 obraz zachycuje mnohem více detailů než při pozorování ve světlém poli. Polarizační mikroskop může být vybaven kompenzátozem, který měří rozdíly optické dráhy paprsků světla. Světlo lze polarizovat odrazem, dvojlomem, nebo absorpcí. V mikroskopii se jako polarizátor používá krystal zvaný nikol, polarizující světlo dvojlomem, či absorpční filtr z lineárně polarizačního materiálu. [5, 8, 12].

3.10.4 Fázový kontrast a interferenční mikroskopie

Vlastnosti světla umožňují použití metod fázového kontrastu a interferenční mikroskopie pro zvýšení kontrastu výsledného obrazu. Protože se světlo chová jako vlna, může docházet k interferenci vln.

Metoda fázového kontrastu zlepšuje kontrast výsledného obrazu. Nerovnosti na povrchovém reliéfu vzorku způsobují fázové posunutí světelných vln. Posunuté vlny interferují spolu s vlnami bez změny fáze a dochází ke změnám v intenzitě světla, čímž se nerovnosti zviditelňují. Metodou fázového kontrastu lze zviditelnit rozdíly ve výšce na povrchu vzorku v mezích 1 až 5 nm. Její využití je tedy v zobrazení velice malých nerovností v materiálu [5, 12, 16].

Interferenční mikroskopie využívá interference paprsků odražených od různých povrchů. Světelný paprsek jdoucí ze zdroje je rozložen na dva či více paprsků. Rozdělené paprsky dopadají na vzorek, případně na referenční povrch (etalon) umístěný na vzorku. Při odrazu od vzorku dojde k fázovému posunu paprsku, druhý paprsek se odrazí bez fázového posunu. Po průchodu objektivem jsou paprsky opět složeny dohromady a vzájemně interferují, čímž vznikne výsledný obraz struktury. Interferenční mikroskop je kombinací světelného mikroskopu a interferometru [5, 12, 16].



Obr. 18: Porovnání zobrazení austenitu při zvětšení $500\times$ na mikroskopu Zeiss Axio Observer Z1m
a) ve světlém poli, b) v tmavém poli, c) polarizace obecná, d) polarizace při 90°

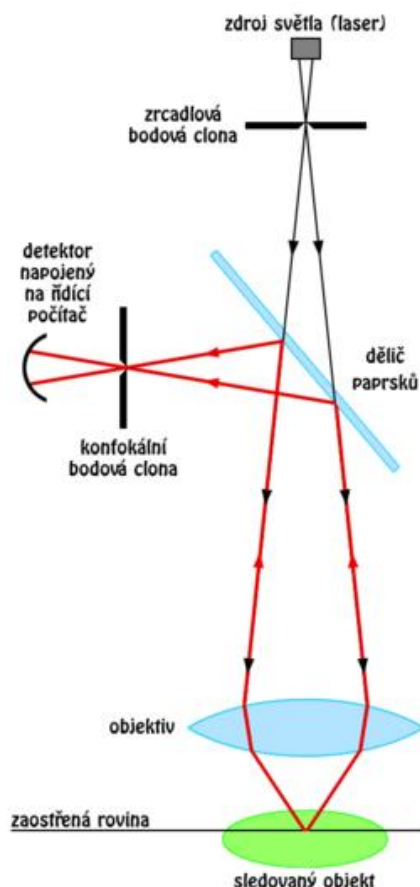
3.11 Konfokální mikroskopie

Při zobrazování vzorků s velkou tloušťkou dochází k rušivým jevům, neboť se paprsky světla odrážejí od povrchů, jež nejsou v ideální rovině ostrosti. Získaný obraz je vlivem těchto paprsků rozostřený a má nízký kontrast. Problémy související se zobrazováním vzorků s větší tloušťkou řeší konfokální skenovací mikroskopie. Konfokální mikroskop detekuje pouze paprsky odražené od ideální roviny ostrosti. Vytváří tak ostrý obraz vzorku, u něhož lze pozorovat jemnější detaily a zároveň umožňuje 3D zobrazení struktury vzorku. První konfokální mikroskop patentoval Marvin Minský v roce 1957. V té době však Minský nenašel vhodný zdroj světla pro konstrukci konfokálního mikroskopu. V roce 1967 potom M. Petrůň a M. Hadravský představili konfokální mikroskop na principu rotujícího Nipkowova disku. Na začátku 70. let byl vynalezen první konfokální mikroskop s rozmiřtým laserovým paprskem, který umožňuje kvalitnější zobrazení povrchu [17, 20].

3.11.1 Princip konfokální mikroskopie

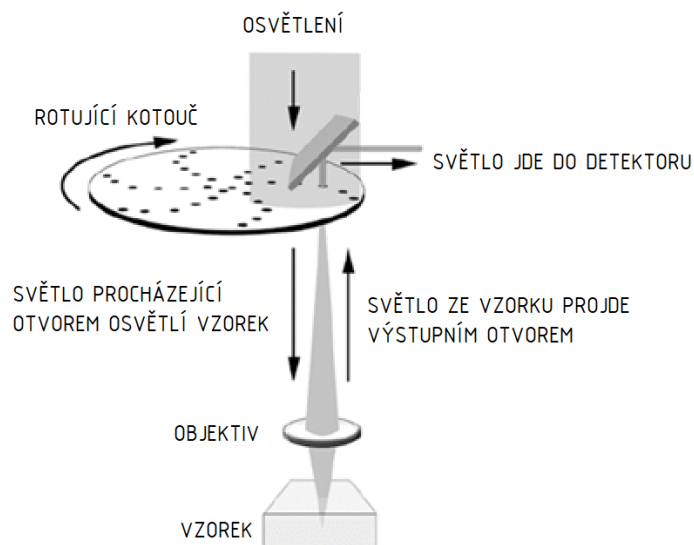
Laserový skenovací konfokální mikroskop (LSCM) na obrázku č. 19 využívá jako zdroj světla laserový paprsek, který je úzce zaostřený pomocí bodové clony. Paprsek po průchodu clonou putuje přes dichroické zrcadlo, následně projde objektivem a osvětlí vzorek. Odražený paprsek prochází opět objektivem a narazí na dichroické zrcadlo. Od zrcadla se tentokrát odrazí a prochází bodovou clonou, která odstraní signály z rovin jiných, než je rovina ostrosti. Výsledný signál zachycuje elektronický detektor. Konfokální mikroskop pracuje na principu bodového skenování obrazu. Bodové světlo je zaostřeno vždy pouze na jeden bod vzorku. Postupně jsou získávány obrazy jednotlivých bodů, které jsou následně složeny v jeden výsledný obraz struktury [5, 20].

Stejně jako u klasického světelného mikroskopu ovlivňuje rozlišení konfokálního mikroskopu vlnová délka použitého světla (v tomto případě laseru), numerická apertura objektivu, a také velikost konfokální clony. V běžných aplikacích se používá clona, která propustí přibližně 50-75 % světla. Maximální rozlišovací schopnosti konfokálního mikroskopu je totiž dosaženo tehdy, pokud průměr clony odpovídá nejvýše $\frac{1}{4}$ Airyho kroužku. Při použití většího průměru clony, než je průměr Airyho kroužku, je rozlišovací schopnost konfokálního mikroskopu srovnatelná s klasickým světelným mikroskopem. Příliš malý průměr clony by však způsobil pokles intenzity detekovaného signálu, proto je nutné hledat kompromis mezi rozlišovací schopností mikroskopu a intenzitou detekovaného signálu. Obrázek č. 21 ukazuje lomovou plochu se zachyceným a vyznačeným výškovým profilem, která je zobrazena konfokálním mikroskopem [17, 21].

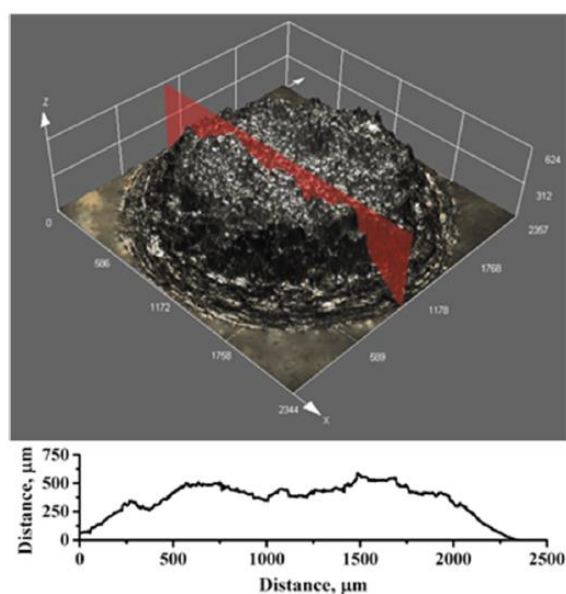


Obr. 19: Laserový skenovací konfokální mikroskop. Převzato z [22]

Druhým typem konfokálního mikroskopu je rastrovací tandemový konfokální mikroskop (TSCM), který je založen na principu Nipkowova kotouče. Skenování probíhá pomocí rotujícího kotouče s přesně rozmístěnými otvory (clonami), které jsou rozvrženy do tvarů Archimédových spirál. Při roztočení kotouče je vzorek postupně osvětlován a skenován paprsky světla. Vždy jsou použity dvě sady otvorů, jedna sada osvětluje vzorek a tou druhou prochází zpět světlo odražené od vzorku. U tandemového konfokálního mikroskopu je tak více oblastí vzorku osvětlováno najednou, což umožňuje větší rychlost snímání. Vyšší rychlost snímání však ovlivňuje výslednou kvalitu obrazu. Detektor přijímá signály z více míst současně a výsledný obraz má pak horší rozlišení. Výhodou tandemového konfokálního mikroskopu ale je, že vzorek je možné pozorovat v reálném čase a v reálných barvách okem nebo CCD kamerou. Tandemový konfokální mikroskop je na obrázku č. 20 [5, 17, 20].



Obr. 20: Konfokální mikroskop na bázi rotujícího Nipkowova disku. Převzato z [20]



Obr. 21: Lomová plocha s vyznačeným a zobrazeným výškovým profilem [23]

3.11.2 Mechanismus rastrování

U laserového skenovacího konfokálního mikroskopu probíhá rastrování pomocí rozmítaného laserového paprsku, tedy posouváním laserového paprsku pomocí clony. Případně může být vzorek skenován posouváním vzorku před objektivem, či posuvem objektivu před vzorkem. U tandemového konfokálního mikroskopu je rastrování docíleno Nipkowovým rotujícím kotoučem [17, 20].

3.11.3 Detektory

Detektorem u konfokálního mikroskopu může být fotodioda či fotonásobič. Fotonásobič převádí signál z fotonů na elektrický signál, který je následně zesílen a zachycuje se v podobě proudových pulsů. Fotonásobič je připojen k počítači a předává mu informaci o podobě bodu a zároveň o jeho umístění. Počítač z těchto informací vytvoří konečný obraz vzorku poskládáním jednotlivých bodů [17, 21].

3.11.4 Fluorescenční konfokální mikroskopie

Konfokální skenovací mikroskopie je často spojována s fluorescenční mikroskopií. Konfokální mikroskop může využívat principu fluorescence. U mikroskopů založených na tomto principu vzorek vyzařuje fotony, které následně zachycuje detektor. Fluorescenční konfokální mikroskopie však nachází uplatnění hlavně v biologii, a proto v této práci nebude dále rozvedena [5].

3.11.5 Využití konfokální mikroskopie

Konfokální mikroskopie zajišťuje vysoké rozlišení i vysokou ostrost obrazu. Mezi další výhody patří možnost trojrozměrného zobrazení objektů, což je umožněno složením několika optických řezů vzniklých plynulou změnou hloubky zaostření. Všechny tyto faktory tvoří z konfokální mikroskopie užitečný nástroj při zkoumání struktury materiálů. V materiálovém inženýrství se konfokální mikroskopy využívají například při vyhodnocování testů mikrotvrdosti, pozorování lomových ploch a rekonstrukci povrchového reliéfu vzorků [17, 20].

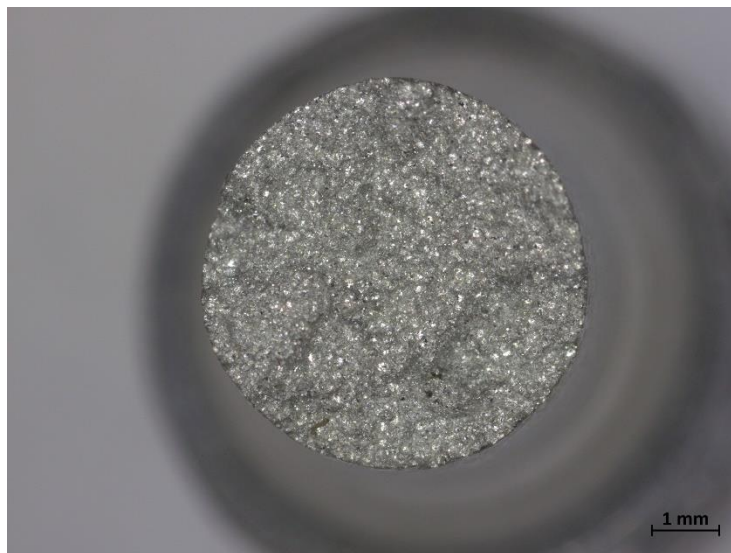
3.12 Stereomikroskop

Stereomikroskop je zvláštním druhem světelného mikroskopu, který se využívá pro pozorování vzorků v 3D rozměru. Pokusy o sestrojení stereomikroskopu probíhaly již od počátku 19. století. Významný pokrok v této oblasti nastal ovšem až v roce 1957, kdy americký vynálezce Horatio S. Greenough sestrojil stereomikroskop, který skutečně dokázal trojrozměrně zobrazit vzorek. Stereomikroskop byl v podstatě složen ze dvou samostatných mikroskopů, tedy ze dvou objektivů a dvou okulárů (každý pro jedno oko). V roce 1957 byl v USA představen první moderní stereomikroskop [24].

Stereomikroskop funguje na základě principu, že lidský mozek vytváří trojrozměrné vidění složením dvou obrazů. Každé oko totiž zachycuje předmět pod trochu jiným úhlem a mozek tyto dva obrazy zpracuje a vytvoří 3D obraz. Stereomikroskop tedy vytváří dva obrazy vzorku, pro každé oko zvlášť, aby tak vytvořil trojrozměrné zobrazení vzorku [24].

Greenoughův stereomikroskop v dnešní době nahradil tzv. CMO systém (Common main objective). Ten se vyznačuje jedním společným objektivem, ale dvěma různými okuláry. Světelné paprsky odražené od povrchu vzorku prochází objektivem po dvou na sobě nezávislých rovnoběžných optických trasách. Poté pokračují do dvou okulárů a jsou vytvořeny dva pootočené obrazy vzorku. Paprsky se na vzorku protínají přesně v ohnisku a obraz není nijak natočený. Osvětlení u stereomikroskopu bývá většinou horní, vzorek je pozorován v odraženém světle. Může se tedy používat i pro objemné, neprůhledné materiály [24].

Stereomikroskop pracuje spíše při menším zvětšení, výhodou je ale relativně velká pracovní vzdálenost, což umožňuje dobrou manipulaci se vzorkem. Dalšími výhodami stereomikroskopu je relativně velká hloubka ostrosti, vysoký kontrast a minimum geometrických deformací. Používá se pro montáž a kontrolu výrobků i ke zkoumání povrchu materiálů s velkým povrchovým reliéfem, např. lomových ploch. Na obrázku č. 22 je zachycena lomová plocha při zobrazení stereomikroskopem. Patrná je velká šířka obrazu a hloubka ostrosti [24].



Obr. 22: Lomová plocha zobrazená stereomikroskopem Zeiss Stemi 508

4 ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

Jak bylo uvedeno v předchozích kapitolách, rozlišení světelného mikroskopu výrazně limituje vlnová délka použitého světla. Ve třicátých letech byl sestrojen první transmisní elektronový mikroskop, který místo viditelného světla používal k zobrazování vzorků proud elektronů. Elektronový svazek má kratší vlnovou délku než viditelné světlo a umožňuje tak dosáhnout daleko vyššího rozlišení. V oblasti elektronové mikroskopie docházelo k dalšímu vývoji a postupně tak bylo vyvinuto velké množství metod založených na zobrazování pomocí elektronů. Po transmisní mikroskopii (TEM) následovala skenovací elektronová mikroskopie (SEM), analýza elektronovou sondou (EPMA), vyvinula se také technika difrakce zpětně odražených elektronů (EBSD). Mezi další vzniklé techniky v oblasti mikroskopie, které již ovšem nejsou založeny na pozorování pomocí elektronů, patří např. mikroskopie atomárních sil (AFM), technika fokusovaného iontového svazku (FIB) a další [25].

Zásadou vysoké rozlišovací schopnosti elektronového mikroskopu lze pozorovat velmi malé detaily struktury, zároveň je ale nutné si uvědomit, že pozorujeme velmi malou část vzorku. Z tohoto důvodu u heterogenních materiálů musí být kladen důraz na výběr místa pozorování, které ovlivní získané informace. Při zpracovávání informací o struktuře a vlastnostech materiálu se často užívá statistický přístup zpracování dat [8].

V základu se dá elektronová mikroskopie dělit na transmisní elektronovou mikroskopii, která používá k vytvoření obrazu elektrony prošlé vzorkem a skenovací elektronovou mikroskopii, která používá sekundární a zpětně odražené elektrony. Obě tyto metody se používají k tvorbě obrazu, ale lze je také využít k difrakci elektronů a provést fázovou analýzu, případně zachytit charakteristické rentgenové záření a využít ho k prvkové analýze. Tyto metody budou popsány v následujících kapitolách.

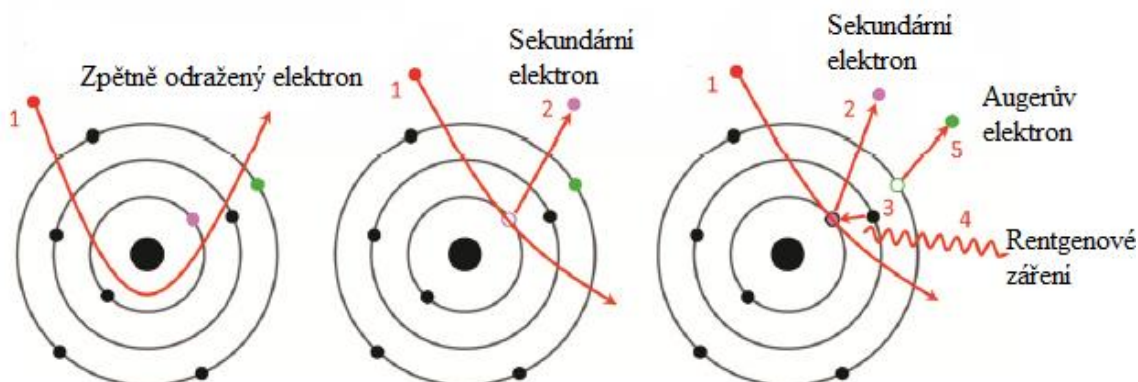
4.1 Základní princip

Princip optiky elektronového mikroskopu se velmi podobá tomu světelnému. Ze zdroje vychází paprsek elektronů. Ten prochází čočkami, což bývají elektromagnetické cívkové s magnetickým polem, případně válce s polem elektrostatickým. Čočky fokusují svazek elektronů dopadajících na vzorek, čehož je dosaženo tím, že elektrické či magnetické pole upraví dráhu elektronů. Při dopadu elektronů na vzorek vzniká množství fyzikálních signálů, které lze zachytit a na jejich základě vytvořit výsledný obraz. Dochází k detekci úhlového a energetického rozdělení elektronů, které vystoupily ze vzorku či se odrazily od jeho povrchu. Zachytit lze i intenzitu charakteristického a brzdného rentgenového záření [12].

4.1.1 Interakce elektronů se vzorkem

Elektrony vycházející ze zdroje elektronů se nazývají primární. Tyto elektrony mají všechny prakticky stejnou energii E [eV], určenou urychlujícím napětím zdroje. Při dopadu svazku primárních elektronů na povrch vzorku dochází k interakci s atomy vzorku. Když na sebe elektrony a atomy vzorku vzájemně působí, dochází ke vzniku fyzikálních signálů, jež je možné detekovat a vytvořit tak obraz vzorku. Část elektronů může projít vzorkem a část se jich odrazí od povrchu. Při dopadu primárních elektronů na vzorek i průniku elektronů jeho

objemem dochází k rozptylu. Rozptyl se dá rozdělit z hlediska zachování kinetické energie na pružný a nepružný, oba typy jsou ukázány na obrázku č. 23 [12, 26].



Obr. 23: Rozptyl elektronů – vznik zpětně odraženého elektronu (pružný rozptyl) a sekundárního elektronu, Augerova elektronu a rentgenového záření (nepružný rozptyl). Převzato z [23]

4.1.1.1 Pružný rozptyl

Pružný (elastický) rozptyl nastává, když se kinetická energie zachovává. Elektrony při pružném rozptylu mění směr svého pohybu z důvodu působení Coulombovských sil mezi elektrony primárního svazku a jádry atomů (odklon o velké úhly), popřípadě mezi primárními elektrony a elektronovým plynem (odklon o malé úhly).

Primární elektrony, které podstoupí mnoho pružných srážek a změni svůj směr pohybu o více jak devadesát stupňů, mají velkou pravděpodobnost, že se dostanou opět k povrchu materiálu. Po jeho opuštění se nazývají zpětně odražené/rozptýlené elektrony (BSE). Ty opouští vzorek s minimálními energetickými ztrátami oproti energii primárních elektronů. Čistě pružná srážka ve skutečnosti neexistuje, pokud se ale srazí elektron s atomovým jádrem o mnohonásobně větší hmotnosti, je ztráta energie elektronu zanedbatelná. Při pružné srážce získá elektron zrychlení a může dojít k emisi elektromagnetického záření, tedy rentgenového fotonu, toto záření se nazývá brzdné (jinak také spojité) rentgenové záření [8, 12, 25].

Pravděpodobnost, že dojde k interakci elektronu s atomy vzorku, udává interakční průřez. Ten závisí hlavně na energii primárního svazku elektronů. Interakční průřez nedefinuje plochu rozptylu, ale pravděpodobnost, že k rozptylu dojde. Tento průřez se značí σ a jeho jednotkou je barn ($1 \text{ barn} = 10^{-28} \text{ m}^2$). Čím větší hodnotu tedy průřez má, tím větší je pravděpodobnost rozptylu elektronů [27].

Více než interakční průřez jako takový, je u elektronové mikroskopie důležité, jak jsou při procesu rozptylu odchylovány elektrony primárního svazku od svých drah. Záleží na tom, zda je úhel rozptylu jiný, než je úhel θ . Pokud je jiný, nemusí elektrony projít aperturou, případně se nedostanou na detektor a není tak zachycen jimi vytvořený signál. Tuto skutečnost popisuje diferenciální účinný průřez, který udává úhlové rozložení rozptylu elektronů při interakci s jedním atomem. Elektrony mohou být rozptýleny od úhlu θ [°] až do pevného úhlu Ω [°], jak je znázorněno na obrázku č. 24. Mezi úhly platí vztah:

$$\Omega = 2 \cdot \pi \cdot (1 - \cos\theta) . \quad (10)$$

Diferenciální účinný průřez pro jeden atom je pak definován jako:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot \sin\theta} \cdot \frac{d\sigma}{d\theta} . \quad (11)$$

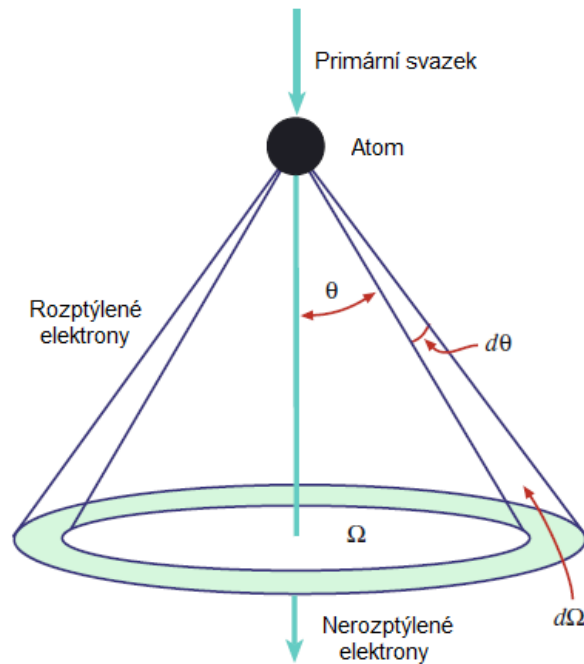
Účinný průřez pro jeden atom, pro rozptyl v úhlech větších, než θ lze získat integrací rovnice č. 11 od nuly do π :

$$\sigma_{atom} = \int_0^\pi d\sigma = \int_0^\pi \frac{d\sigma}{d\Omega} \cdot \sin\theta \cdot d\theta . \quad (12)$$

Tato rovnice platí pouze při interakci s jedním izolovaným atomem. Pokud chceme vypočítat celkový účinný průřez pro celý povrch vzorku, musíme vynásobit tento průřez počtem atomů vzorku N [-]. Celkový účinný průřez σ_{celk} [m^2] udává počet rozptylů na jednotku vzdálenosti, kterou urazí elektron ve vzorku:

$$\sigma_{celk} = N \cdot \sigma_{atom} = \frac{N_0 \cdot \sigma_{atom} \cdot (\rho \cdot t)}{A} , \quad (13)$$

kde N_0 [mol^{-1}] je Avogadrova konstanta, A [$\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}$] je atomová hmotnost atomu ve vzorku, ρ [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$] je hustota atomu vzorku a t [m] tloušťka vzorku [27].



Obr. 24: Rozptyl elektronů jedním izolovaným atomem. Převzato z [27]

K popisu interakce lze kromě interakčního průřezu použít i střední volnou vzdálenost. Ta je definovaná jako průměrná vzdálenost, kterou urazí elektron mezi jednotlivými srážkami s atomy. U tenkých vzorků lze s její pomocí zjistit, jakou tloušťku mají vzorky mít, aby nedocházelo k vícenásobným srážkám. Pokud dojde při průchodu vzorkem pouze k jednomu rozptylu, lépe se interpretují získaná data. Střední volná vzdálenost λ [m] je definovaná jako převrácená hodnota celkového účinného průřezu σ_{celk} [m⁻¹]:

$$\lambda = \frac{1}{\sigma_{celk}}. \quad (14)$$

Střední volná vzdálenost charakterizuje také nepružné procesy. Proto společně se znalostí úbytku energie na jednu srážku lze pomocí této vzdálenosti odvodit hloubku, ze které pochází signál sekundárních elektronů [27].

4.1.1.2 Nepružný rozptyl

Nepružný rozptyl naopak nastává, pokud primární elektron část kinetické energie ztrácí. Primární elektrony, jejichž rozptyl je nepružný, naráží do volných elektronů a elektronů vázaných v obalech atomů vzorku a tím jim předají svoji energii. Část energie elektronu je předána elektronům v atomu, volným elektronům nebo krystalové mřížce. Ztráta energie elektronu při jedné srážce se běžně pohybuje v mezích 0,5–200 eV, při vzniku rentgenového záření nebo Augerových elektronů může dosáhnout až 80 000 eV [8, 12].

Pokud dojde k nepružné srážce primárních elektronů s elektrony vázanými v atomech vzorku, nazývá se tento jev obalová excitace. Srážka zapříčiní vytržení vázaných elektronů z jejich orbitalů a přemístění do jiné energetické hladiny nebo mezi volné elektrony. Pokud se tyto elektrony dostanou mimo objem vzorku, nazývají se sekundární. Po vytržení elektronu se atom nachází v ionizovaném stavu a na prázdné místo se okamžitě přesune elektron z vyšší energetické hladiny. Přechodem elektronů mezi hladinami se vytvoří přebytek energie, který může provázet vyzáření fotonu charakteristického rentgenového záření, nebo vyzáření Augerova elektronu. Augerův elektron vznikne, pokud je energie uvolněná z přeskočení elektronu mezi energetickými hladinami předána elektronu z vnější slupky. Tento elektron opustí svoji pozici, a dostane-li se pryč ze vzorku, je nazýván Augerův elektron [12, 25].

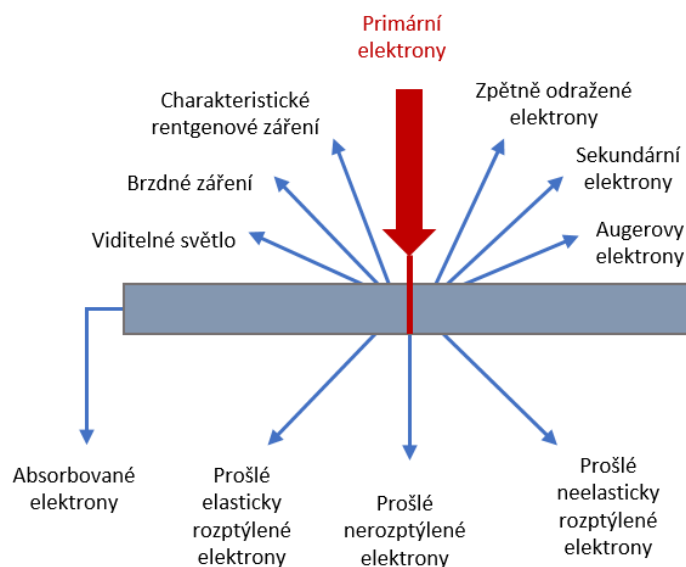
Energie fotonů charakteristického rentgenového záření odpovídá rozdílu energetických hladin, mezi kterými došlo k přeskočení elektronu. Energie Augerových elektronů je potom úměrná rozdílu budící a vazebné energie. Pokud známe tyto hodnoty, je možné je porovnat s konfigurační energií elektronových obalů atomů různých prvků. Konfigurační energie pro prvky periodické tabulky prvků je známá, a lze tak určit, o jaký prvek se jedná [25].

Primární elektrony, jejichž energie po srážkách s atomy vzorku klesla na úroveň volných elektronů, zůstávají v krystalické mřížce kovu a nazývají se absorbované. V opuštění krystalické mřížky jim brání energetická bariéra. Absorbované elektrony mohou uvolňovat elektrony z vnějších vrstev mřížkových atomů a tvořit tak sekundární elektrony. V průběhu interakce mezi primárními elektrony a vzorkem dochází ke katodoluminiscenci: V důsledku tohoto jevu vzniká viditelné světlo, které může být v TEM využito ke zjišťování optických

vlastností vzorku. Ze vzorku vystupuje i infračervené a UV záření. Elektronový paprsek dopadající na vzorek také generuje teplo, což může vést k poškození vzorku [12, 25].

Shrnutí typů signálů na obrázku č. 25 [25, 28]:

1. Elektrony prošlé vzorkem – nerozptýlené, elasticky i neelasticky rozptýlené elektrony, důležité pro transmisní mikroskopii.
2. Absorbované elektrony
3. Augerovy elektrony (AE)
4. Charakteristické rentgenové záření
5. Brzdné rentgenové záření (spojité) – vzniká zpomalením urychleného primárního elektronu (nep pružná interakce s jádrem atomu)
6. Zpětně odražené elektrony (BSE) – primární elektrony odražené zpět po interakci s atomovým jádrem, dělí se na BSE1 (po první srážce se odrazí pryč ze vzorku), BSE2 (po více srážkách vystupují ze vzorku) a BSE3 (šumové elektrony)
7. Sekundární elektrony (SE) – elektrony vyražené primárními elektrony z elektronových obalů, pochází ze vzorku, dělí se na SE1 (generované primárními elektrony), SE2 a SE3 (generované zpětně odraženými elektrony) a SE4 (šumové elektrony)

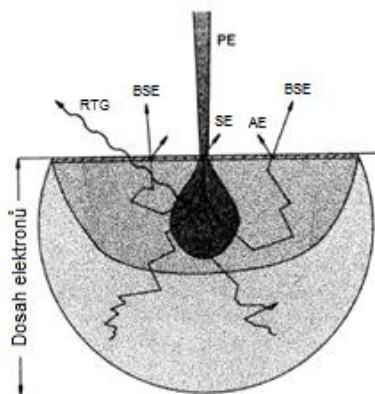


Obr. 25: Typy signálů vznikajících při interakci elektronů se vzorkem. Převzato z [25]

4.1.1.3 Interakční objem

Při zobrazování vzorku pomocí elektronů je dobré vědět z jaké hloubky pod povrchem vzorku, a z jakého objemu signály pochází. Objem, z něhož se generují různé typy signálů, je zachycen na obrázku č. 26. Velikost tohoto objemu, v němž dochází k interakci primárních elektronů, závisí na velikosti urychlovacího napětí a na protonovém čísle materiálu. To, z jaké hloubky pod povrchem vzorku se budou jednotlivé druhy signálů emitovat, závisí na kinetické energii daných elektronů. Z nejmenší hloubky pod povrchem vzorku, zhruba 1 nm, se emitují

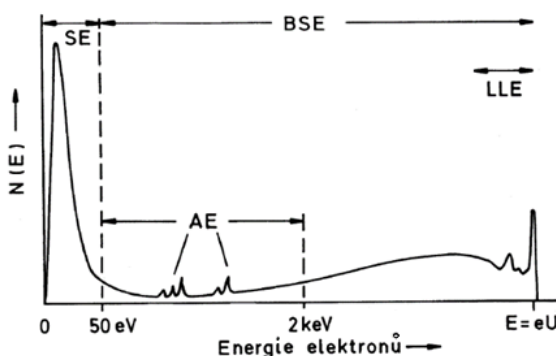
Augerovy elektrony – proto se používají pouze k analýze povrchu vzorku. Naproti tomu rentgenové záření může být vyzářeno z mnohem větší hloubky (jednotky mikrometrů), proto může být využito ke zjištění prvkového složení ve větší hloubce pod povrchem. Sekundární elektrony (SE), které rychle ztrácejí kinetickou energii, se emitují z oblasti do hloubky asi 5 nm pod povrchem vzorku. Zpětně odražené elektrony (BSE), které mají energii větší, se emitují z hloubky desítek až stovek nanometrů [26, 29–31].



Obr. 26: Interakční objem. Převzato z [29]

Na obrázku č. 27 je zachycena závislost počtu emitovaných elektronů $N(E)$ na energii emitovaných elektronů. Energie, se kterou unikají sekundární elektrony z povrchu vzorku, je malá. Sekundární elektrony lze rozdělit na rychlé a pomalé. Energie rychlých SE dosahuje poloviny energie primárního svazku elektronů. Mnohem větší zastoupení v porovnání s rychlými mají pomalé SE, jejichž energie se pohybuje nejčastěji okolo 2 až 5 eV (na obrázku č. 27 je vidět pík v této oblasti). Nejvíce (až 90 %) sekundárních elektronů je emitováno s energií pod 10 eV. K tvorbě obrazu v SEM přispívají hlavně pomalé SE. Hranice mezi sekundárními a zpětně odraženými elektrony je stanovena na 50 eV [26, 29].

Zpětně odražené elektrony mohou mít energii od nuly až po energii elektronů z primárního svazku. Jejich energie závisí na tom, jak velkou vzdálenost urazily ve vzorku, než unikly z jeho povrchu, a ke kolika srážkám v průběhu toho došlo. Většina zpětně odražených elektronů si zachovává energii odpovídající alespoň 50 % energie primárního svazku [26, 29].



Obr. 27: Energetické spektrum elektronů. Převzato z [27]

4.1.2 Zdroj elektronů

Osvětlování vzorku v elektronové mikroskopii zajišťuje elektronový svazek. Zdrojem elektronů je elektronové dělo (elektronová tryska). Dělo může fungovat na dvou základních principech, a to buď termoemisním (tepelná emise), nebo autoemisním (emise v silném elektrickém poli) [28].

Termoemisní elektronové dělo emituje elektrony v důsledku žhavení vlákna. Termoemisní zdroj se skládá z vlákna ve tvaru V, Wehneltova válce a anody. Vlákem, které se nachází uvnitř Wehneltova válce, prochází elektrický proud a dochází tak k jeho žhavení. Vlákno se vyrábí z wolframu (W), případně jako katoda může sloužit ostrý hrot z hexaboridu lanthanu (LaB_6), nebo méně často z hexaboridu ceru (CeB_6). Toto vlákno je zahříváno v případě wolframu na teplotu okolo 2700 K, hrot LaB_6 potom na 1700 K. Zahřátí vlákna umožní emisi elektronů. Dráhu elektronů po jejich emitování zachycuje obrázek č. 28. Elektrony jsou dále Wehneltovým válcem koncentrovány v místě zvaném křižoviště. Křižoviště lze považovat za bodový zdroj elektronů, který je nezbytný pro fokusaci paprsku (katoda je všesměrový zdroj). Z tohoto místa jsou dále odvedeny použitím napětí o velikosti pár stovek voltů. Elektrony jsou následně urychleny vysokým urychlovacím napětím, působícím mezi válcem a anodou a získají tak kinetickou energii E_k [eV] rovnou:

$$E_k = e \cdot U = \frac{1}{2} \cdot m_e \cdot v^2, \quad (15)$$

kde e [C] je náboj elektronu, v [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$] je rychlost elektronu a m_e [kg] hmotnost elektronu. Dosazením z de Broglieova vztahu pro vlnovou délku získáme závislost vlnové délky elektronů na urychlovacím napětí:

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m_e eV \left(1 + \frac{eV}{2m_e c^2}\right)}} \approx \frac{h}{\sqrt{2m_e eV}}, \quad (16)$$

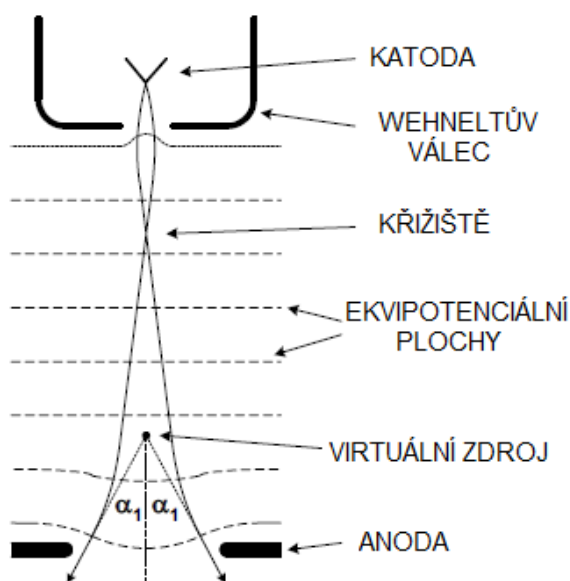
kde $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ N} \cdot \text{m} \cdot \text{s}$ je Planckova konstanta, $m_e = 9,109 \cdot 10^{-31} \text{ kg}$ hmotnost elektronu, $e = -1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ je náboj elektronu, V [V] je urychlovací napětí a $c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ rychlost světla ve vakuu. Po dosazení hodnot urychlovacího napětí pro transmisní mikroskopii $U = 100 \text{ kV}$ dostáváme vlnovou délku elektronů $\lambda = 0,0039 \text{ nm}$. Pokud dosadíme urychlovací napětí typické pro skenovací elektronovou mikroskopii $U = 10 \text{ kV}$ získáme vlnovou délku $\lambda = 0,01226 \text{ nm}$. Ve srovnání s viditelným světlem, jehož vlnová délka se pohybuje v rozmezí zhruba 390 až 800 nm, dosahují elektrony až o čtyři řády nižší vlnové délky. Tato skutečnost umožňuje dosáhnout daleko lepšího rozlišení v elektronové mikroskopii [12, 25, 30].

Z materiálů používaných na výrobu vlákna má lepší vlastnosti LaB_6 . Oproti wolframu poskytuje jasnější osvětlení ($10\times$ větší emise elektronů), redukuje rozptýlení energie a má lepší životnost. Je však podstatně náročnější, co se týče vakuové čistoty v prostoru tubusu. Množství emitovaných elektronů roste se vzrůstající teplotou vlákna až do stavu nasycení, od tohoto bodu

se jas už dále nezvětšuje. S vysokou teplotou vlákna je ovšem spojena jeho menší životnost. Při osvětlování je proto ideální vlákno zahřívat velice pomalu a na teplotu menší, než je teplota nasycení [25].

Příkladem autoemisního elektronového děla je studená katoda. Jedná se o velice ostrý wolframový hrot, který dosahuje teplot pouze okolo 300 K. Součástí děla jsou dvě anody, z nichž jedna má nižší napětí (řádově kV) a vytváří elektrické pole. Působením tohoto pole odejdou elektrony z katody. Druhá anoda s vyšším napětím urychluje elektrony. Autoemisní metody zajišťují lepší jas, menší velikost paprsku, delší životnost, lepší koherenci a redukci rozptylu energie, ovšem mají větší nároky na úroveň vakua [8, 25].

Často používaným autoemisním zdrojem ve skenovací elektronové mikroskopii je Schottkyho zdroj elektronů. U Schottkyho zdroje je emise elektronů zvýšena působením elektrostatického pole na povrch katody. Elektrostatické pole zmenší potenciální bariéru, bránící emisi elektronů. Schottkyho zdroj tvoří wolframové vlákno ve tvaru V, na jehož konec je naleptán hrot z monokrystalu wolframu. Hrot je pokrytý ZrO_2 a zahřívá se na teplotu okolo 1800 K. Emitované elektrony jsou urychleny anodou. Větší hustota proudu elektronů je zajištěna menší potenciální bariérou a také tím, že elektrony vystupují z velmi malé oblasti na špičce krystalu [27, 30].



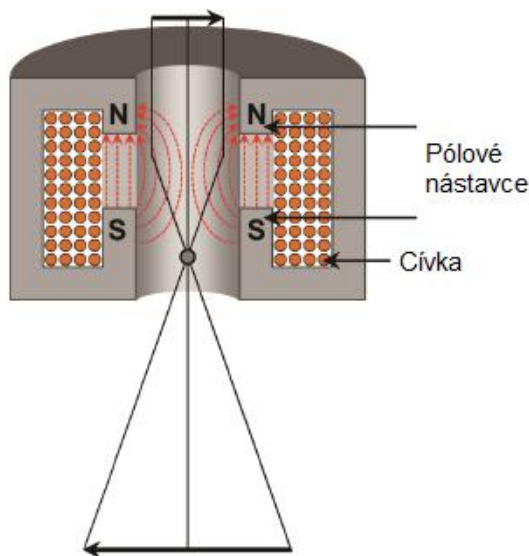
Obr. 28: Zdroj elektronů. Převzato z [30]

4.1.3 Elektronové čočky

Elektronové čočky slouží ke zmenšení průřezu obrazu křížistě z elektronovém děla a k jeho následnému zaostření na povrch vzorku. Dále jsou použity ke zmenšování či zvětšování obrazu vzorku. Dají se rozdělit na elektrostatické a elektromagnetické. Elektrostatické čočky využívají spojitou změnu potenciálu a tím mění dráhu elektronového paprsku v příčném elektrickém poli.

Je pro ně nutný stabilní zdroj vysokého napětí. Používají se u zdroje elektronů – Wehneltův válec funguje jako elektrostatická čočka. Pro další ostření se používají spíše elektromagnetické čočky, které nemají tak výrazné aberace [26, 27].

Elektromagnetické čočky jsou elektromagnetické cívky, které mají za úkol změnit trajektorii proudu elektronů tak, aby zaostřily elektrony na vzorek. princip čočky spočívá v tom, že cívkou prochází elektrický proud. Ten vytvoří magnetické pole, jež následně ovlivní trajektorii elektronového svazku [25].



Obr. 29: Elektromagnetická čočka. Převzato z [30]

Elektromagnetická čočka je zachycena na obrázku č. 29. Póly čoček jsou vyrobeny z měkkého železného magnetického materiálu, který nezadržuje magnetizaci po vypnutí magnetického pole. Magnetické pole, vytvářené proudem procházejícím cívkou, vzniká uvnitř železného pláště, v němž jsou zabaleny měděné cívky [25].

Elektromagnetická čočka vytváří rotačně souměrné magnetické pole. Jakmile elektron vstoupí do čočky, začne na něj působit v důsledku tohoto pole Lorentzova síla:

$$\mathbf{F} = -e \cdot (\mathbf{E} + \mathbf{v} \times \mathbf{B}), \quad (17)$$

kde E [$\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$] je intenzita elektrického pole (nulová pro elektromagnetické čočky), B [T] magnetická indukce, v [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$] rychlost elektronu a e [C] jeho náboj. Elektronu je Lorentzovou silou udělena rychlost. Jedna složka rychlosti rovnoběžná k magnetickému poli, způsobí fokusaci paprsku (pokud se paprsky protínají před čočkou v jednom bodě, protnou se v jednom bodě i za čočkou), a druhá složka způsobí rotaci elektronu. Trajektorie elektronů je tedy prostorová spirála [27, 29].

Paprsky elektronů se působením magnetického pole protnou za čočkou v jednom bodě – ohnisku. Pokud ohnisko čočky leží mimo vliv elektromagnetického pole, lze ohniskovou vzdálenost elektromagnetické čočky vyjádřit vztahem:

$$f = konst \cdot \frac{W_k \cdot R}{I^2 \cdot n^2}, \quad (18)$$

kde W_k [eV] je kinetická energie elektronů, R [m] střední poloměr čočky, I [A] intenzita sytícího proudu a n počet závitů cívky. Z rovnice vyplývá, že při zvyšování proudu, který prochází cívkou, klesá ohnisková vzdálenost čočky. V případě, že není magnetické pole zcela homogenní, vznikají aberace čoček [8].

4.1.4 Vady elektromagnetických čoček

Vzhledem k podobnosti optických soustav elektronového a světelného mikroskopu, lze u elektromagnetických čoček pozorovat stejné vady jako u čoček ve světelné mikroskopii.

Chromatickou vadu zapříčiňuje různá vlnová délka elektronů vycházejících z elektronového děla. Elektronové paprsky s různou vlnovou délkou se zalomí pod rozdílnými úhly a nesejdou se v jednom ohniskovém bodě, ale naopak protnou optickou osu v různých ohniscích. Bodový objekt je v důsledku této vady zobrazen jako disk a nastávají problémy se zaostřením obrazu. Poloměr vzniklého disku r_{ch} [mm] lze vyjádřit:

$$r_{ch} = C_c \cdot \alpha \cdot \frac{\Delta E}{E_0}, \quad (19)$$

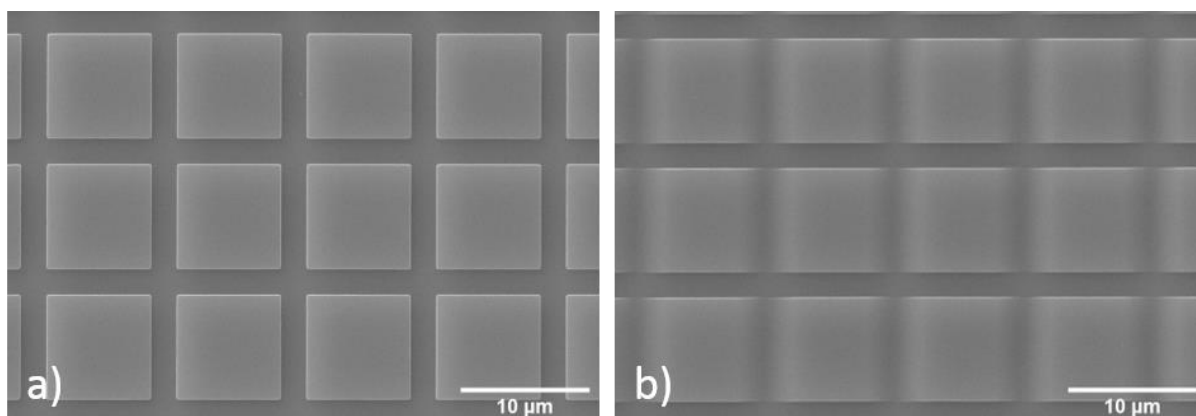
kde C_c [mm] je koeficient chromatické aberace, α [°] výstupní úhel čočky, ΔE [eV] rozptyl energie, E_0 [eV] je počáteční energie. Při kolísání urychlovacího napětí dochází k fluktuaci rychlosti elektronů a chromatická vada je výraznější. Neboť může chromatická vada také narůstat při zvětšování výstupního úhlu paprsků α , jeho zmenšováním ji lze korigovat. Zmenšit lze také energetický rozptyl elektronů ΔE . Ten však narůstá po průchodu tenkým vzorkem, a ještě více při dopadu elektronů na objemný vzorek. Korekce se dá provést taktéž zvětšením urychlovacího napětí, čímž vzroste E_0 [25, 26].

Sférická vada elektronové čočky má stejný princip jako u světelného mikroskopu. Elektrony vzdálené od optické osy čočky jsou fokusovány více než elektrony procházející blízko osy čočky. Vinou sférické aberace se bod zobrazí jako disk o poloměru r_s [mm], který udává rovnice č. 19. Sférickou vadu lze korigovat zmenšováním výstupního úhlu čočky α , zmenšování tohoto úhlu má však negativní vliv na rozlišovací schopnost mikroskopu. Na vině jsou difrakční jevy a také menší množství elektronů prošlých clonou, které tvoří výsledný obraz. Poloměr disku r_s [mm] lze určit jako:

$$r_s = C_s \cdot \alpha^3, \quad (20)$$

kde C_s [mm] je koeficient sférické aberace a α [°] výstupní úhel čočky [25, 26].

Astigmatismus se projevuje tím, že v obraze nelze současně zaostřit svislé a vodorovné čáry. Astigmatismus má původ – stejně jako ve světelné mikroskopii – v zobrazování bodů ležících mimo optickou osu pomocí šikmých paprsků. Vzniká také kvůli asymetrii pólových nástavců čoček, případně vinou nečistot v optické soustavě mikroskopu. Korekce této vady se provádí stigmátory. Jedná se o soustavu sudého počtu malých elektromagnetických cívek rozložených souměrně okolo primárního elektronového svazku. Díky sudému počtu cívek vytváří vlastní souměrné korekční pole a korigují tak astigmatismus základních čoček soustavy. Vliv astigmatismu je zachycen na obrázku č. 30 b) zatímco na obrázku a) je astigmatismus plně korigovaný [8, 25].



Obr. 30: a) Korigovaný astigmatismus, b) Nekorigovaný astigmatismus

4.1.5 Rozlišení elektronového mikroskopu

Stejně jako u světelných mikroskopů se i u elektronového mikroskopu bodový objekt nezobrazí jako bod, ale jako několik soustředných kružnic. Toto zobrazení se nazývá Airyho či rozptylový kroužek. Rozlišitelná vzdálenost, tedy kritická vzdálenost mezi body, při které je od sebe dokážeme rozlišit, je definovaná pomocí Rayleighova kritéria:

$$\delta = \frac{0,61 \cdot \lambda}{A}, \quad (21)$$

kde δ [mm] je rozlišení mikroskopu, λ [nm] vlnová délka, A [-] je numerická apertura. Jedná se o difrakční limit optického systému bez zahrnutí aberací [25].

Rozlišení mikroskopu může být vylepšeno použitím objektivu s větší numerickou aperturou nebo osvětlením vzorku paprsky s kratší vlnovou délkou (elektrony mají vlnovou délku 0,0123 nm při použití 10 kV a 0,0025 nm při 200 kV). Rozlišení elektronového mikroskopu však výrazně ovlivňují vady optické soustavy. Největší vliv na něj má sférická a chromatická vada [8].

4.2 Transmisní elektronová mikroskopie

Transmisní elektronový mikroskop (TEM) umožňuje rozlišit objekty až na úrovni 1 nm. Pracuje na podobném principu jako mikroskop světelný, místo paprsků světla je k zobrazení využit svazek elektronů. Aby mohl vzniknout obraz, musí elektronový svazek projít vzorkem. Transmisní mikroskop tedy pracuje se vzorky o velmi malých tloušťkách, vzorky proto vyžadují specifickou přípravu, která je popsána v dalších kapitolách [8].

V transmisní elektronové mikroskopii může část elektronů projít vzorkem, část se jich rozptýlí. Detekovaný signál nese informaci o přítomnosti defektů v krystalech, uspořádání krystalů, zobrazení poloh atomů a lze identifikovat typ mřížky. Pomocí TEM lze provést také prvkovou analýzu vzorku [27].

4.2.1 Konstrukce transmisního elektronového mikroskopu

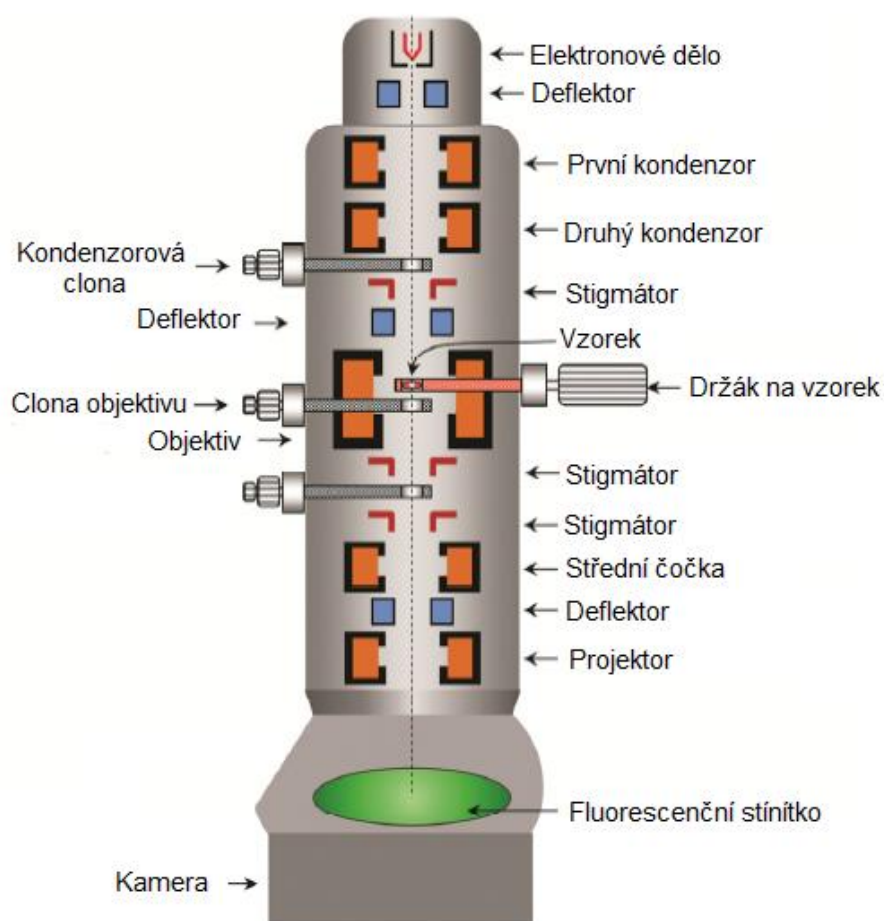
Transmisní elektronový mikroskop lze rozdělit do několika základních částí. Patří mezi ně osvětlovací soustava, zobrazovací soustava, elektronická soustava (zdroj urychlovacího napětí a sytícího proudu elektromagnetických čoček) a vakuový systém. Do osvětlovací soustavy spadá zdroj elektronů a kondenzorové čočky. Do zobrazovací soustavy se řadí objektiv, střední čočka a projektor [25, 27].

Kompletní schéma transmisního elektronového mikroskopu zachycuje obrázek č. 31. V tubusu mikroskopu je umístěn zdroj elektronů, dva kondenzory, objektiv, střední čočky a projektor. Dále se v optické soustavě v tubusu nachází stigmátor, korigující astigmatismus a několik clon redukujících šířku elektronového svazku [25].

Uvnitř tubusu je vakuum, které zajišťuje lepší šíření elektronového svazku mikroskopem (elektrony se nesráží s molekulami vzduchu) a chrání žhavené vlákno proti oxidaci. Tubus je spojen s vakuovou soustavou, kterou tvoří rotační, difuzní, iontové a turbomolekulární vývěvy [12, 25].

Vzorek je v elektronovém mikroskopu umístěn na stolku, který umožňuje křížový posuv, naklápění kolem vodorovné osy a otáčení kolem osy svislé. Na stolek se vzorek umisťuje vakuovou propustí, neboť se vzorek nachází ve vakuové komoře mezi pólovými nástavci objektivu [8, 25].

Elektromagnetickými čočkami prochází vysoký proud, a proto dochází k ohřevu jejich pláště. Součástí mikroskopu je tak i vodní chladicí systém, která je připojen k plášťům čoček a ochlazuje také difuzní vývěvu [25].



Obr. 31: Schéma transmisního elektronového mikroskopu. Převzato z [25]

4.2.2 Optická soustava

V transmisním elektronovém mikroskopu vychází svazek elektronů z elektronového děla a pokračuje přes kondenzory. Kondenzor promítá křižistě elektronového svazku na vzorek. Poté, co svazek projde vzorkem, pokračuje dále přes objektiv a střední čočku. Nakonec je projektorem promítnut na detektor. Princip elektronového děla byl popsán v kapitole 4.1.2, dále tedy bude rozebrána funkce kondenzoru, objektivu, střední čočky a projektoru [27].

Kondenzor usměrňuje svazek elektronů dopadajících vzorek. V soustavě se nachází dvě kondenzorové čočky, z nichž jedna ovlivňuje velikost svazku a druhá jeho intenzitu. Při správném nastavení kondenzoru osvětlují elektrony vzorek paralelně a tedy rovnoměrně. Pod druhým kondenzorem se může nacházet deflektor, jenž umožňuje šikmé osvětlení vzorku [25].

Součástí zobrazovací soustavy je čočka objektivu. Funkcí objektivu je zachytit paprsky rozptýlované vzorkem a do předmětové roviny střední čočky pak promítnout zvětšený obraz vzorku. Objektiv vytvoří první obraz (případně difrakční vzor), ten je dále zvětšen dalšími čočkami. Zaostření obrazu probíhá změnou buzení objektivu. Kvalita prvního obrazu významně ovlivňuje výsledný obraz, všechna zkreslení se dále budou zvětšovat a prohlubovat [25].

Za objektivem se v zobrazovací soustavě nachází střední čočka. Ta dále zvětšuje obraz a přepíná mezi vytvářením obrazu a difrakčním módem. První obraz, případně difrakční vzor vytvořený objektivem se nachází v jeho zadní ohniskové rovině. Pokud je střední čočka zaostřena na první obraz dochází k jeho zvětšení dalšími čočkami a obraz se pak objeví zvětšený na obrazovce. Za střední čočkou následuje projektor. Jedná se o čočku s proměnnou optickou mohutností, která zajišťuje další zvětšení obrazu a promítá jej na stínítko. Projektor má velkou hloubku ostrosti [25, 27].

Celkové konečné zvětšení obrazu Z je dáno součinem zvětšení objektivu Z_{Obj} , zvětšení střední čočky $Z_{Stř}$ a zvětšení projektoru Z_{Proj} [25]:

$$Z = Z_{Obj} \cdot Z_{Stř} \cdot Z_{Proj} . \quad (22)$$

Užitečné zvětšení transmisního elektronového mikroskopu závisí na rozlišitelné vzdálenosti mikroskopu a rozlišitelné vzdálenosti oka. Užitečné zvětšení $Z_{už}$ je takové, kdy je rozlišitelná vzdálenost mikroskopu d_{min} [m] zvětšena na rozlišitelnou vzdálenost oka d_{ok} [m] [8]:

$$d_{min} \cdot Z_{už} = d_{ok} . \quad (23)$$

Hloubka ostrosti u transmisního mikroskopu je dostatečně velká, aby obsáhla celý tenký vzorek. To může vést k rozostření obrazu, neboť se jednotlivé zaostřené vrstvy překrývají [8].

4.2.3 Detektory

U elektronových mikroskopů vytváří obraz signály pocházející z elektronů. Abychom mohli obraz pozorovat, je nutné ho převést na obraz světelný (pozorovatelný prostým zrakem). U většiny transmisních mikroskopů k tomu slouží fluorescenční stínítko, digitální kamera (CCD, CMOS), případně dnes už málo používaná fotosenzitivní vrstva fotografického filmu. Stínítko je podkladová deska, na kterou je nanesen práškový ZnS nebo směs ZnS/CdS. Když na tento povrch dopadnou elektrony, dojde ke katodoluminiscenci a vznikají fotony. Vyzářené fotony se nachází ve žluté nebo zelené oblasti spektra (největší citlivost oka). Intenzita emitovaného světla závisí na energii elektronů, ale především na množství elektronů, které dopadnou na stínítko. Velikost práškových částic určuje rozlišení stínítka, velikost zrn u ZnS se pohybuje okolo 50 nm. Pokud je intenzita vyzářeného světla malá, nemusíme být schopni pozorovat obraz na stínítku pouhým okem. V těchto případech lze využít zesilovač jasu nebo CCD kameru [25, 27, 28].

Pro tvorbu obrazu se u transmisní elektronové mikroskopie může použít také slow-scan CCD kamera (SSC). Detektor SSC kamery zaznamená změny intenzity zobrazujícího svazku elektronů. Jako detektor se používá například YAG krystal, ten vytvoří fotony světla, které jsou přivedeny optickými vlákny na CCD detektor. CCD detektor pracuje na principu fotoelektrického jevu. Obsahuje velké množství pixelů (více než 10 milionů), což jsou malé křemíkové fotodiody. Pixely jsou od sebe navzájem izolovány. Při dopadu světla se uvolní elektrony a pixely skladují náboj v poměru k intenzitě dopadajícího záření. Z jednotlivých pixelů je vytvořen výsledný obraz [27, 28].

4.2.4 Kontrast v TEM

U transmisního elektronového mikroskopu je možné popsat kontrast jako rozdíl intenzit záření prošlého vzorkem na dvou sousedních místech. Při průchodu vzorkem tloušťky x [mm] lze pro popis snížení intenzity záření použít základní zeslabovací zákon:

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu x}, \quad (24)$$

kde I_0 [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] je intenzita záření dopadajícího na vzorek, I [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] je intenzita prošlá vzorkem, μ [-] zeslabovací součinitel (zahrnuje efekt absorpce a rozptylu). V případě, že by byl vzorek amorfni a homogenní, uplatní se pouze absorpce a zeslabovací součinitel je po celém vzorku konstantní. Zeslabení intenzity proto závisí pouze na změnách v tloušťce vzorku. Pokud vzorek není homogenní, tak v místě, kde se mění struktura nebo složení vzorku, dojde ke změně hodnoty zeslabovacího součinitele. Intenzita tak závisí na tloušťce stěny i zeslabovacím součiniteli [8].

U fólií interaguje záření s krystalickou mřížkou vzorku a dochází tak ke změnám intenzity záření. V místě, kde se liší uspořádání krystalografických rovin (je zde např. porucha krystalické mřížky), se záření více rozptýlí a klesne tak intenzita záření prošlého vzorkem. Toto místo se na výsledném obrazu bude jevit jako tmavší [12].

Aby lidské oko bylo schopno obraz rozlišit, musí kontrast být alespoň 5-10 %. Pro kontrast C [-] platí: [25]

$$C = \frac{(I_2 - I_1)}{I_1} = \frac{\Delta I}{I_1}, \quad (25)$$

kde ΔI [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] je rozdíl intenzit dvou sousedních oblastí a I_1 [$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$] intenzita první oblasti [25].

4.2.5 Obrazový mód v TEM

Zobrazení ve světlém poli v elektronové mikroskopii nastane, pokud pomocná čočka a projektor jsou zaostřeny na rovinu prvního obrazu. Poté přesunou zvětšený obraz na stínítko. Pokud v zadní rovině není clona, je obraz tvořen svazkem přímých i difraktovaných elektronů, což způsobí, že obraz není ostrý ani kontrastní. Do této roviny se tedy umístí aperturní clona a odkloní se difraktované paprsky (zmenší se otvorový úhel objektivu). Vylepší se tak ostrost prvního obrazu. Jestliže jsou na obraze temné všechny silně difraktující oblasti, jedná se o difrakční kontrast [8].

Zobrazení v temném poli naopak vznikne, pokud obraz vytvoří difraktované svazky elektronů. Toho je dosaženo vyosením aperturní clony nebo odklonem elektronového svazku (nakloní se celá osvětlovací soustava). Místa na vzorku s malou difrakcí budou temná a naopak místa, kde dochází k velké difrakci budou světlá. Rozptýlené svazky elektronů mají však velké odchylky v rychlostech, což způsobuje velkou chromatickou aberaci a špatné rozlišení [8].

4.2.6 Difrakční mód v TEM

V TEM je možné kromě obrazového módu využít módu difrakčního. Elektronová difrakce poskytuje informace o krystalografické orientaci zrn a identifikaci fází v heterogenních kovech. Při přepínání transmisního mikroskopu do difrakčního módu je vysunuta aperturní clona a zmenší se optická mohutnost střední čočky. Zadní ohnisková rovina, do které je objektivem promítán difrakční obrazec, je přenesena na stínítko [8, 27].

Selekční clonu lze zařadit do roviny prvního obrazu o průměru D [μm], který je rovný zvětšení objektivu Z_{obj} . Pak dostaneme difrakci z oblasti vzorku o velikosti přibližně $1 \mu\text{m}$. Právě bodová difrakce umožňuje určit krystalografickou orientaci roviny. Pokud na krystalografické roviny dopadá svazek primárních elektronů pod úhlem θ , může dojít k difrakci. Na stínítko pak dopadá svazek prošlý i svazek difraktovaný pod celkovým úhlem 2θ [$^\circ$]. Pro tento úhel platí:

$$\frac{r}{L} = tg(2\theta), \quad (26)$$

kde r [m] je vzdálenost stop prošlého a difraktovaného paprsku na stínítku, L [m] vzdálenost stínítka od vzorku. Pro malé difrakční úhly platí:

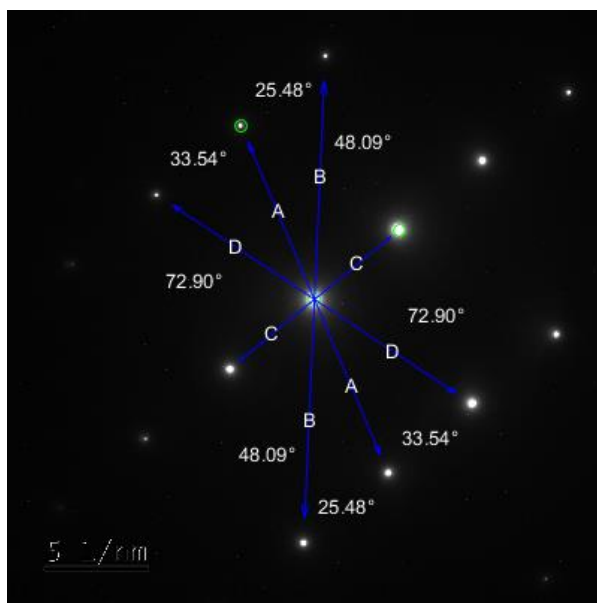
$$tg(2\theta) = \frac{\lambda}{d}, \quad (27)$$

kde λ [m] je vlnová délka dopadajících elektronů a d [m] mezirovinná vzdálenost [8, 12].

Z těchto rovnic vyplývá:

$$r \cdot d = L \cdot \lambda = D_f, \quad (28)$$

kde D_f je difraktografická konstanta, která je stanovena experimentálně. Z tohoto vztahu lze vypočítat mezirovinnou vzdálenost d . Vznikne difrakční spektrum, z něhož lze určit krystalografickou orientaci zrn. Snímek bodové difrakce, na kterém se měří vzdálenosti stop paprsků, je na obrázku č. 32 [12].



Obr. 32: Bodová difrakce

4.2.7 Prvková analýza v TEM

Při interakci svazku primárních elektronů se vzorkem vzniká mimo jiné i charakteristické rentgenové záření. Tento druh signálu lze využít k prvkové analýze interakčního objemu. Detekované spektrum rentgenového záření poskytne po analýze spektrometrem kvantitativní i kvalitativní informace o obsahu jednotlivých prvků v dané oblasti [26].

Analýza je založena na skutečnosti, že každý prvek má svou typickou strukturu energetických hladin, poskládaných okolo jádra atomu do tzv. elektronového obalu. Energetické rozdíly hladin lze porovnat s energií fotonu rentgenového záření. Foton si po vyzáření zachovává energii odpovídající rozdílu energetických hladin, mezi kterými došlo k přeskoku elektronu (viz kapitola 4.1.1). Energetická (případně vlnová) struktura spektra rentgenového záření tak odpovídá struktuře atomového obalu [12, 28].

Mezi energií fotonu rentgenového záření ε [eV] a jeho vlnovou délkou λ [nm] existuje vztah:

$$\varepsilon = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}, \quad (29)$$

kde h [eV·s] je Planckova konstanta a c [m·s⁻¹] rychlost rentgenového záření ve vakuu [12, 28].

Pro detekci rentgenového záření se využívá analyzátor. Ten provádí rozklad rentgenového záření podle energie (EDS). EDS je analýza energií spektrálních čar. Polovodičový detektor typu PN bývá tvořen monokrystalem křemíku s přídavkem lithia, chlazeným Peltierovým článkem. Rentgenové záření dopadá na detektor a proniká do přechodové oblasti. Energie dodaná rentgenovým zářením způsobí, že valenční elektrony

přejdou mezi vodivostní a vznikne pár elektron-díra. Počet párů, které vzniknou, je přímo úměrný energii rentgenového záření [12, 28].

Vzhledem k velké energii rentgenového záření je nutná široká přechodová oblast, aby bylo zachyceno všechno záření dopadající na detektor. Zadní a přední strana detektoru jsou pokryty tenkou vrstvou stříbra nebo niklu. Na diodě je záporný potenciál a vytvoření párů elektron-díra umožní vedení proudu a je tak vytvořen impuls. Proudové pulsy jsou zesíleny tranzistorem řízeným polem (FET). Velikost pulsu je úměrná energii rentgenového záření. Po zesílení je signál analyzován v mnohokanálovém analyzátoru a je z něj vytvořeno energetické spektrum. Roztřídění probíhá dle různých energií fotonů rentgenového záření v závislosti na jeho intenzitě. Tento detektor provádí mikroanalýzu s vysokým rozlišením čar charakteristických energií ve spektru. Poskytuje přesnou kvantitativní i kvalitativní analýzu (vysoké rozlišení a energetická citlivost), další výhodou je vysoká rychlost analýzy a schopnost analyzovat i velmi malé částice. EDS lze použít u transmisního i skenovacího elektronového mikroskopu [12, 28, 30].

4.2.8 In-situ transmisní elektronová mikroskopie

Transmisní elektronový mikroskop umožňuje pozorovat změny vzorků v reálném čase, takzvaně in-situ (na místě). Vzorek může být ohříván či natahován přímo v mikroskopu. Lze tedy provádět tahové zkoušky, pozorovat průhyb vzorku, fázové transformace při ohřevu, či změny defektů při natahování. Obraz je zaznamenáván v reálném čase CCD kamerou, kamerami s přímou detekcí, případně vysokorychlostními kamerami. Po analýze in-situ je dobré udělat také analýzu ex-situ, abychom se ujistili, že paprsky elektronů nezpůsobily změnu naměřených údajů. Čas nutný k zachycení chování vzorku závisí na době trvání daného procesu. Např. pro fázové přeměny je tato doba velice krátká, proto se musí pozorovat pomocí vysokorychlostních kamer. Data z kamer jsou následně přenesena do počítače a tam zpracována [32].

4.2.9 Příprava vzorků pro TEM

V TEM musí být vzorky dostatečně tenké, aby jimi mohly proniknout elektrony. Využívají se proto specifické metody přípravy vzorku, aby bylo dosaženo dané tloušťky (většinou méně než 100 nm). Při přípravě tenkého vzorku musí být stále zachována jeho původní struktura. V ideálním případě má být vzorek elektricky vodivý, aby byly elektrony odváděny z povrchu vzorku a nehromadily se zde. Používají se tři typy vzorků: fólie, filmy a repliky [8].

Repliky jsou snímány z povrchu vzorku, kopírují tedy jeho povrchový reliéf. Udávají proto informace o povrchu vzorku, omezují však rozlišovací schopnost mikroskopu. Nejsou samonosné, proto se umísťují na elektrolyticky vyrobené podpůrné síťky o průměru 3 mm. Požadavky kladené na repliky jsou takové, aby neměly vlastní strukturu, poskytovaly dostatečný kontrast a byly fázově i rozměrově stabilní při průchodu elektronů. Repliky lze dělit na jednostupňové a dvoustupňové [8, 12, 23].

Při tvorbě jednostupňové repliky se na naleptaný povrch nanese roztok kolodia (0,1 až 1 % nitrocelulózy v rozpouštědle). Rozpouštědlo se na vzduchu odpaří a zůstane pouze tenká elastická vrstva kolodia, která se sejme pomocí lepicí pásky. Tím vznikne jednostupňová negativní replika s malým kontrastem. Dalším typem jednostupňových replik jsou repliky extrakční, kdy se přímo na povrch vzorku napaří vrstva uhlíku, která se snímá elektrolytickým nebo chemickým podleptáním. Částice ve struktuře, které odolávají leptání, přejdou ze vzorku do uhlíkové vrstvy. Částice následně mohou být podrobeny chemické mikroanalýze, či zkoumání pomocí difrakčních spekter [8, 12].

U dvoustupňové repliky se jako základ použije jednostupňová replika. Na ni se kolmo napaří slabá vrstva amorfního uhlíku. Protože vrstva uhlíku neposkytuje dostatečný kontrast, je otisk následně stínován. Stínování probíhá napařením těžkého kovu pod šikmým úhlem (30° až 45°). Používají se těžké kovy se střední teplotou tavení, které se shlukují a netvoří souvislou vrstvu (Au, Cr, Pd, sloučenina Au-Pd). Těžký kov se zachytí na vhodně natočených plochách a vznikne tak vrstva o tloušťce asi 0,3-1,5 nm. Otisk bývá rozřezán na kousky a uložen na podpůrnou síťku, kde je rozpuštěna kolodiová vrstva, čímž se získá pozitivní otisk. Dvoustupňové repliky se hlavně využívají, pokud je povrch vzorku velmi členitý [8, 12].

U hliníku a jeho slitin lze vytvořit oxidové repliky. Vrstva na povrchu vzorku vznikne anodickou oxidací v elektrolytu. Výhodou je, že při zkoumání nehomogenních slitin se vzorek nemusí leptat, protože každá fáze oxiduje jinak a utvoří se na ní oxidační vrstva s různou tloušťkou. Různá tloušťka vrstvy pak způsobí kontrast [8, 12].

Folie jsou samonosné vzorky, které jsou vytvářeny postupným ztenčováním vzorku. Podávají komplexní informace o celém prozařovaném objemu, umožňují difrakční analýzu a neomezují rozlišovací schopnost mikroskopu. Proces výroby fólie se skládá z odříznutí tenkého plátu z masivního vzorku, z něhož se vyřízne kotouč o průměru 3 mm. Ten je následně zeslabován broušením a leštěním, hlavně ve středu kotouče. Poslední etapou je závěrečné ztenčování [12, 27].

K řezání vzorků se používají drátové elektrojiskrové řezačky nebo tenké diamantové kotouče, které vyříznou plát o tloušťce asi 0,8 mm. Následuje srovnání povrchu broušením za postupného snižování velikosti zrna. Broušením se také odstraní zplodiny po elektrojiskrovém řezání. Jako další následuje elektrolytické nebo chemické leštění, kdy dojde k dalšímu ztenčení disku, přičemž je nejvíce ztenčen střed disku. Závěrečné ztenčení může proběhnout chemicky, elektrolyticky, nebo iontovým odprašováním [8, 12].

Chemické ztenčování je rozpouštění vzorku roztokem kyselin (kyselina je volena dle materiálu vzorku). Disk je buď ponořen do kyseliny, nebo dochází k omývání povrchu tryskou za excentrické rotace disku. Urychlení tohoto procesu je možné zvýšením teploty na 50 až 100°C. Proces chemického ztenčování je hůře kontrolovatelný a hrozí změny v substruktuře materiálu. Chemické ztenčování se využívá u nevodivých materiálů, čistých kovů a homogenních slitin s kvalitním povrchem. Nerovnoměrný povrch způsobuje nerovnoměrné rozpouštění povrchu [8, 12].

Závěrečné ztenčování elektrolytickým leštěním probíhá jako anodické rozpouštění vzorku (popsané v kapitole 3.8). Lze ho provádět ručně nebo na speciálních přístrojích. Proces probíhá až do doby, než ve fólii vznikne perforace. V tomto momentu vzniká nejrozsáhlejší oblast propustná pro elektronový svazek. V okolí perforace je stěna klínovitě ztenčená, takže u okraje je folie transparentní pro elektronový paprsek. Elektrolytické ztenčování se používá pro vodivé vzorky [8, 12].

Při iontovém odprašování svazek iontů Ar^+ nebo neutrálních atomů o energii několika eV bombarduje povrch fólie. Ve většině případů je používán argon, protože je inertní, těžký a nevyskytuje se ve většině vzorků. Bombardováním povrchu ionty dochází k odebrání atomů a tím i ke ztenčení fólie. Iontový svazek nedopadá na povrch fólie pod kolmým úhlem, ale je nakloněn, aby se omezilo procházení svazku skrz fólii. Iontový svazek má vysokou energii, proto je povrch fólie chlazen. Tato metoda je vhodná pro nevodivé a strukturně heterogenní materiály – keramiku, kompozity, polovodiče a slitiny. Nevýhodou je nákladné přístrojové vybavení a dlouhá doba přípravy [8, 12].

Filmy jsou obdobné jako folie. Vytváří se za zvláštních laboratorních podmínek a umožňují studium mřížkových defektů. Nereprezentují však vlastnosti kovu vyrobeného ve velkém objemu [8, 12].

4.2.10 Možnosti a limity TEM

Transmisní elektronový mikroskop se využívá hlavně při zobrazení vad v krystalech a zkoumání následků deformace. Nespornou výhodou transmisní elektronové mikroskopie oproti světlené je, že se u kovů neomezuje pouze na povrch materiálů. Při velkém urychlovacím napětí dokáží elektrony projít přes tenké folie či filmy a zviditelní tak např. poruchy krystalické mřížky. Vzorky pro TEM tedy musí být dostatečně tenké, aby byly transparentní pro elektrony. Tato skutečnost může být považována za nevýhodu TEM, neboť je nutná speciální příprava vzorků [8, 27].

Mikroskop nastavený na pozorování obrazu lze poměrně rychle přepnout na elektronovou difrakci a určit krystalografickou orientaci zrn. Možná je taktéž analýza prvkového složení vzorku detekováním rentgenového záření (EDS).

U transmisního mikroskopu lze dosáhnout zvětšení až $1\,000\,000\times$ a rozlišení zhruba 1 nm. Lze tedy zobrazit velice malou část vzorku, což nevede k informacím o struktuře materiálu jako celku. Transmisní elektronová mikroskopie převádí trojrozměrné objekty na jejich dvojrozměrný obraz, je proto důležité dbát na správnou interpretaci obrazu [27].

4.3 Skenovací elektronová mikroskopie

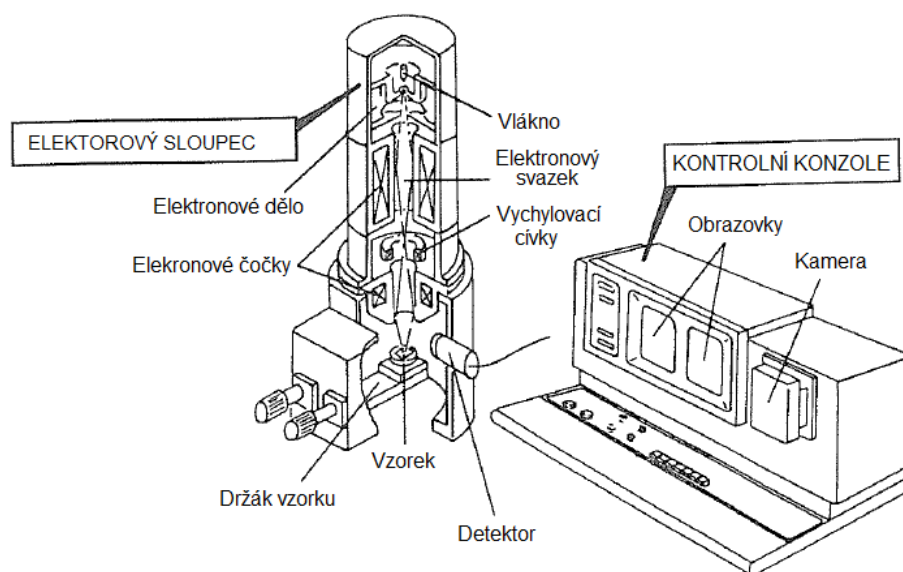
Skenovací (rastrovací) elektronový mikroskop (SEM) vytváří obraz pomocí řádkování, tedy postupného pohybu elektronového svazku po povrchu vzorku. Je vhodná k pozorování vzorků s větší tloušťkou – takových, jež neprozáří elektronový svazek. Vzorek může mít i velké rozměry, ale musí být elektricky vodivý. Z nevodivých vzorků (i nevodivých fází v kovech) je

nutné udělat vodivé, např. napařením kovu nebo uhlíku. Díky velké hloubce ostrosti zachovává SEM trojrozměrné zobrazení vzorku [26].

4.3.1 Konstrukce SEM

Hlavními částmi skenovacího elektronového mikroskopu jsou elektronový sloupec a kontrolní konzole, jak je zobrazeno na obrázku č. 33. V elektronovém sloupci se nachází zdroj elektronů. Ve skenovací elektronové mikroskopii se používá menší urychlující napětí (0,1 až 30 kV) než u transmisních mikroskopů. Z tohoto důvodu má i elektronové dělo menší rozměry. Optická soustava je složena ze dvou nebo více čoček. Hlavními čočkami jsou kondenzor a objektiv. Řádkování generují vychylovací cívky. Elektronový svazek dopadá na vzorek, který je uchycený v držáku. Držák vzorku je pohyblivý ve všech třech směrech a umožňuje také naklápění a rotaci. Uvnitř celého systému je vakuum, které stejně jako u TEM zajišťují rotační, difuzní nebo turbomolekulární vývěvy. Vzorek je do mikroskopu umisťován vakuovými průchody, aby nedošlo k narušení vakua [26].

Součástí mikroskopu je také stabilizovaný zdroj napětí a vysoce stabilizovaný zdroj proudu. K zobrazení, případně zachycení obrazu slouží detektory, obrazovky, zesilovač signálu a kamera [12].



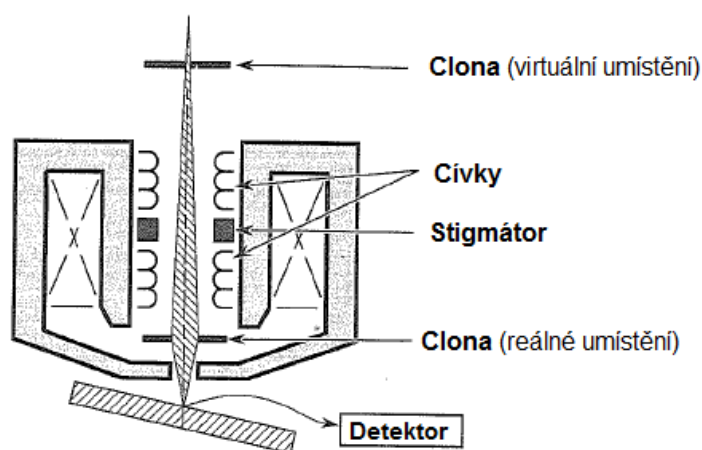
Obr. 33: Skenovací elektronový mikroskop. Převzato z [26]

4.3.2 Optická soustava SEM

Ze zdroje elektronů vystupuje svazek primárních elektronů, který dále prochází kondenzorem. Jedna až tři kondenzorové čočky zmenšují stopu křížště a mění intenzitu proudu svazku primárních elektronů. První kondenzorová čočka kontroluje, jak velkému zmenšení dojde pro daný obrazový režim. Další kondenzorové čočky jsou nastaveny tak, aby dosáhly požadované velikosti křížště. Clona umístěná za kondenzorem odstraňuje rozptýlené elektrony [26].

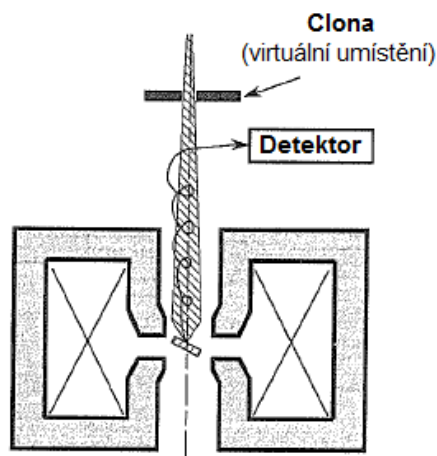
Poslední čočkou umístěnou těsně nad vzorkem je objektiv. Ten ostří úzký elektronový svazek na plochu vzorku. Zaostření svazku ovlivňuje proud, který objektivem protéká. Protože protékající proud bývá velmi vysoký, je vnější plášť objektivu ochlazován vodou. V objektivu bývají obvykle umístěny i vychylovací cívky, stigmátor korigující astigmatismus a clona omezující svazek elektronů. V SEM se používají tři typy objektivů – štěrbinovitá, imerzní a Snorkelova čočka [29].

Štěrbínovitá čočka na obrázku č. 34 je nejčastějším typem objektivu. Jak vyplývá z názvu, má štěrbinovitá čočka na výstupu v pólových nástavcích pouze malý otvor. U tohoto typu čočky je vzorek umístěn mimo čočku, avšak nachází se velmi blízko jejímu otvoru, aby se omezila sférická aberace. Díky malému otvoru v čočce působí magnetické pole pouze uvnitř čočky. Magnetické pole tedy nepůsobí na vzorek umístěný mimo čočku a detekce elektronů jím tak není ovlivněna. Velikost vzorku u štěrbinovité čočky omezuje pouze velikost komory vzorku [26].



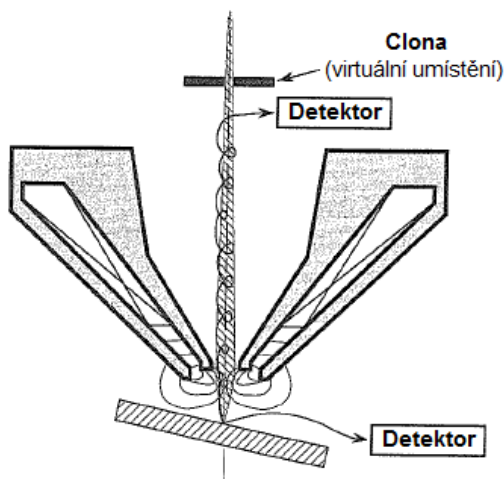
Obr. 34: Štěrbínovitá čočka. Převzato z [26]

U imerzní čočky se malý vzorek nachází přímo uvnitř čočky, jak je zachyceno na obrázku č. 35. Na vzorek proto působí magnetické pole vytvářené uvnitř čočky. Díky malé ohniskové vzdálenosti (2-5 mm) má tento typ čočky malé aberace. Malé aberace umožňují velmi malý průměr stopy paprsku na vzorku, čímž lze dosáhnout velkého rozlišení. U imerzní čočky se často používá TTL detektor, popsáný v dalších kapitolách [26].



Obr. 35: Imerzní čočka. Převzato z [26]

Posledním typem čočky používané v SEM je Snorkelova čočka, která vytváří silné magnetické pole. Jedná se v podstatě o kombinaci štěrbinové a imerzní čočky, jejíž podoba je na obrázku č. 36. Vzorek je u Snorkelovy čočky umístěn mimo její konstrukci. Silné magnetické pole však působí i mimo čočku a ovlivňuje i vzorek ležící vně čočky. Aberace, které se u ní vyskytují, jsou malé. Další výhodou Snorkelovy čočky je, že umožňuje větší velikost vzorků. Lze u ní využít TTL detektor i detektory umístěných v komoře vzorku [29].



Obr. 36: Snorkelova čočka. Převzato z [26]

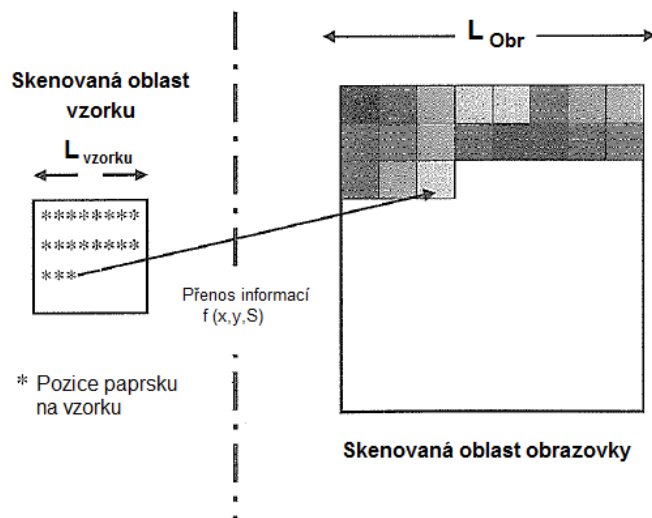
4.3.3 Princip činnosti SEM

K tvorbě obrazu u skenovacího elektronového mikroskopu dochází elektronickou cestou. Elektronové dělo generuje svazek primárních elektronů, jehož stopa je následně zmenšena kondenzorem. Paprsek dále pokračuje do objektivu, kde dojde k zaostření paprsku. Vzorek je tak osvětlován ostře fokusovaným svazkem primárních elektronů, který má velice malý průměr (typicky 10 nm). Elektronový svazek je zaostřen na velmi malé místo na vzorku,

kde reaguje s jeho atomy. Touto interakcí vznikají stejně jako u transmisního mikroskopu detekovatelné signály, sloužící k tvorbě obrazu. K samotnému vytvoření obrazu jsou použity rozdíly intenzit daných signálů zachycených z jednotlivých bodů. Signály používané ve skenovací elektronové mikroskopii jsou většinou sekundární či zpětně odražené elektrony. Protože však tímto způsobem získáme informace pouze o jednom bodě, je nutné skenování celého povrchu vzorku [8, 30].

Aby bylo dosaženo skenovacího pohybu po vzorku, musí být paprsek primárních elektronů vychylován. Pohyb elektronového svazku v osách x a y zajišťuje generátor řádkování, který tvoří dva páry vychylovacích cívek. Ten také zajišťuje, že s řádkovacím pohybem elektronového svazku po vzorku je synchronizováno řádkování obrazovky. Každému bodu vzorku, ze kterého byl zachycen signál, tedy odpovídá jeden bod na obrazovce. Vychylovací cívka nejdříve odkloní paprsek od optické osy a druhá jej zaměří zpět na osu.[26, 29].

Elektronový svazek se pohybuje po diskrétních hodnotách po přímce, poté přejde na další řádek a postupně tak skenuje obdélníkovou oblast vzorku. Skenování v ose x je rychlejší než v ose y . Oba tyto pohyby zajišťuje generátor pilových kmitů. Čas skenování ovlivňuje výslednou kvalitu obrazu. Pokud jsou velké nároky na kvalitu, volí se delší skenování. Zachycované signály modulují jas obrazu (obrázek č. 37), jakákoli změna na vzorku tedy způsobí změnu signálu [30, 31].



Obr. 37: Princip skenování a modulace jasů na obrazovce. Převzato z [26]

Velikost plochy, ze které je získávána informace při zaměření do jednoho bodu, se nazývá pixel. Výsledný obraz je z důvodu rastrování tvořen velkým počtem pixelů (např. 512×512 , 1024×1024). Do počítače je přenesena informace o pozici bodu a jeho intenzitě. Pixel může být kruhový nebo čtvercový a jeho velikost udává poloměr, popř. délka hrany. Pokud uvažujeme čtvercový pixel, lze délku hrany D_P [m] vypočítat jako:

$$D_p = \frac{L_{vzorku}}{N_p} \quad (30)$$

kde L_{vzorku} [m] je délka skenované oblasti vzorku a N_p [-] počet pixelů po této délce. Velikost pixelu pro různá zvětšení a počet pixelů 1024×1024 je v tabulce č. 3. Pro kvalitní obraz je nutné, aby signál zachycený při ozařování jednoho pixelu pocházel pouze z této oblasti. Pokud by signál pocházel z oblasti větší, než je velikost pixelu, signály by se navzájem překrývaly a docházelo by tak k rozostření obrazu. Velikost pixelu je závislá na použitém zvětšení. Lze tedy určit hodnotu zvětšení, při kterém již bude docházet k překrývání signálů. Rozměry pixelu je nutné porovnat s efektivním průměrem oblasti, ze které se emituje signál. Efektivní průměr závisí na velikosti stopy elektronového paprsku, ale hlavně na velikosti interakčního objemu. Velikost pixelu by měla být větší než oblast, ze které jsou získány signály [26].

Tabulka 3: Velikost pixelu jako funkce zvětšení [26]

Zvětšení	Velikost hrany pixelu
10×	10 μm
100×	1 μm
1000×	0,1 μm
10 000×	0,01 μm
100 000×	0,001 μm

4.3.4 Zvětšení

U skenovacího elektronového mikroskopu je zvětšení definováno jako:

$$Z = \frac{L}{L'} \quad (31)$$

kde L [mm] je délka úseku řádkovaného na obrazovce a L' [mm] je odpovídající úsek řádkovaný na povrchu vzorku. Zvětšení se mění změnou rozměrů úseku řádkovaného na povrchu vzorku. Vyššího zvětšení lze dosáhnout zmenšováním průměru stopy a zvýšením rozlišovací schopnosti obrazovky, dané hustotou řádkování. Zvětšení se u skenovací elektronové mikroskopie pohybuje v rozmezí $10\times$ až $100\,000\times$ [12, 26].

4.3.5 Rozlišovací schopnost

Maximální rozlišovací schopnost, dosažitelná u skenovacího elektronového mikroskopu, závisí na minimálním průměru stopy elektronového svazku, dopadajícího na povrch vzorku. V ideálním případě se rozlišovací mez mikroskopu rovná hodnotě průměru této stopy. Rozlišovací schopnost však dále ovlivňuje průměr oblasti vzorku, ze které jsou emitovány elektrony, a také struktura vzorku [8].

Maximální intenzita proudu elektronového svazku závisí také na průměru stopy elektronového svazku. Hodnotu maximálního proudu elektronového svazku lze teoreticky vyjádřit jako:

$$i_{max} \approx \frac{i_c \cdot d_p^{\frac{8}{3}}}{T \cdot C_s^{\frac{2}{3}} \cdot \lambda_e^2}, \quad (32)$$

kde i_c [Acm^{-2}] je proudová hustota katodové emise, T [K] termodynamická teplota katody, λ_e [m] vlnová délka primárních elektronů, C_s [mm] je koeficient sférické vady poslední čočky fokusující svazek na povrch vzorku, d_p [mm] je průměr svazku na povrchu vzorku. Zlepšení rozlišovací schopnosti mikroskopu se dosahuje zvětšováním jasů zdroje elektronů a snižováním sférické vady čočky (koeficientu C_s) [8].

V případě zobrazení sekundárními elektrony je rozlišitelná vzdálenost menší než 10 nm (obvykle 3 až 5 nm), pro zpětně odražené elektrony je rozlišitelná vzdálenost větší než 10 nm. Lze ji vylepšit pomalejší rastrováním elektronového svazku [12].

U SEM lze dosáhnout velké hloubky ostrosti. Ta závisí na celkovém zvětšení, vstupním úhlu primárního svazku, rozlišitelné vzdálenosti a rozlišovací schopnosti lidského oka [8].

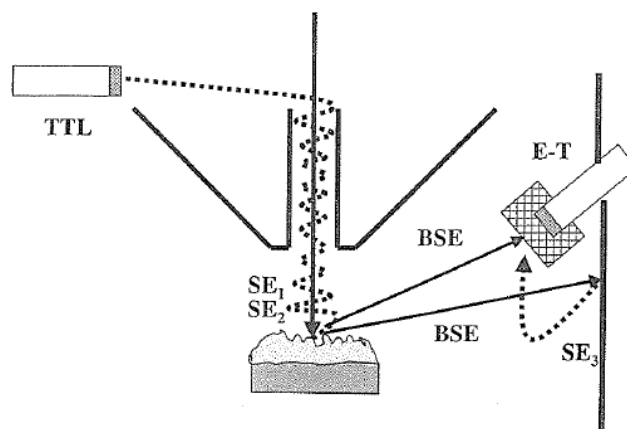
4.3.6 Detektory SEM

K detekci *sekundárních* elektronů se u SEM používá Everhart-Thornleyův scintilační detektor, jinak označovaný jako E-T detektor. Tento typ detektoru je umístěn v komoře vzorku a detekuje kromě sekundárních elektronů také elektrony zpětně odražené. Elektrony jsou přitahovány kladně nabitou drátěnou mřížkou, většina z nich mřížkou projde. Následně jsou urychleny a dopadají na scintilátor, kde vytvářejí fotony. Princip funkce je stejný jako u fluorescenčního stínítka, ale scintilátor má menší účinnost. Počet vyzářených fotonů závisí na kinetické energii dopadajících elektronů. Fotony přestávají být emitovány po relativně krátké době, proto je možné detekovat rychlé změny. Scintilátor pokrývá vstup do světlovodu. Světlovod vede fotony do fotonásobiče, což je vysoce citlivý detektor. Povrch je v místě, kde do něj vstupuje světlo, pokryt tenkou vrstvou materiálu sloužícího jako fotokatoda. Ta absorbuje fotony a vznikne energie dostatečná na uvolnění vodivostních nebo valenčních elektronů. Ty unikají do prostoru fotonásobiče jako fotoelektrony. Následně jsou urychleny směrem k několika kladně nabitým dynodám. V první dynodě generují fotoelektrony sekundární elektrony. Dynody jsou potaženy materiálem s velkým výtěžkem sekundárních elektronů. Při nárazu jednoho fotoelektronu uniknou nejméně dva sekundární elektrony. Sekundární elektrony jsou urychleny k další dynodě a produkují další sekundární elektrony, to se opakuje na každé další dynodě (většinou jich bývá osm). Fotonásobič tedy převede proud fotonů zpět na elektrony a jejich proud mnohonásobně zesílí. Tento proces přeměny z elektronů na fotony a zpět je se používá proto, že při přímé detekci elektronů vzniká šum [8, 26, 30].

Dalším scintilačním detektorem je TTL (trough-the-lens) detektor, zachycený na obrázku č. 38. Ten se nachází v elektronové optice mikroskopu a detekuje sekundární elektrony. Používá se, jestliže magnetické pole objektivové čočky dosahuje až do roviny vzorku (u mikroskopů s velkým rozlišením). Magnetické pole totiž přitahuje sekundární elektrony emitované poblíž optické osy mikroskopu (SE1 a SE2) a ty jsou po spirálovitých trajektoriích dovedeny na detektor. Detektor je umístěn nad objektivem a tvoří ho scintilátor s vysokým

kladným potenciálem. TTL detektor neumožňuje zachycovat SE₃, které se tvoří daleko od optické osy. Nedetekuje ani BSE, protože ty se buď odrazí daleko od optické osy, nebo mají příliš velkou energii [26, 30].

Obrázek č. 39 představuje porovnání obrazů při detekci SE Everhart-Thornleyovým detektorem a TTL detektorem. Díky tomu, že je TTL detektor umístěn přímo v čošce nad vzorkem, obraz jím vytvořený daleko lépe zachycuje zanořené struktury jako například póry, praskliny a staženiny.



Obr. 38: Umístění TTL a E-T detektoru. Převzato z [26]

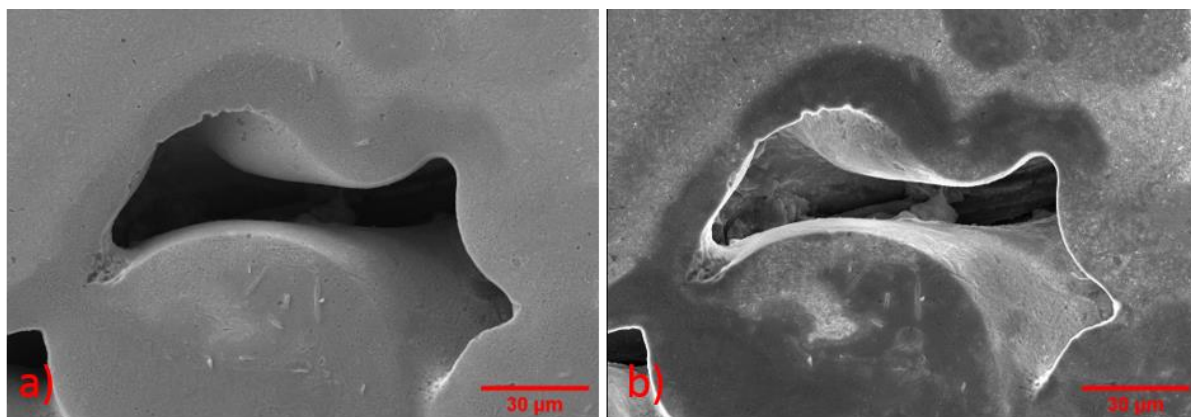
Zpětně odražené elektrony mohou být zachyceny také E-T detektorem, pokud je na mřížce záporný potenciál (odpuzuje to sekundární elektrony). Zpětně odražené elektrony jsou snímány, pokud dopadnou přímo na scintilátor nebo na plochu za mřížkou, kde vytvoří sekundární elektron. Protože mají zpětně odražené elektrony velkou energii, pohybují se po takřka přímočarých trajektoriích. Pokud jsou emitovány z povrchu nakloněného přímo k detektoru, dostane se jich na detektor více. Díky tomu mohou poskytnout určitý topografický kontrast. Zpětně odražené elektrony jsou však emitovány pod velkým množstvím různých úhlů a detektor zachytí pouze ty s malým úhlem. Signál je proto slabý a vyskytuje se zde šum. Pro detekci zpětně odražených elektronů se z tohoto důvodu používá jiný typ detektoru – Robinsonův detektor [30].

Robinsonův detektor obsahuje prstencový scintilátor. Ten je umístěn hned pod objektivem, a v malé vzdálenosti od vzorku. Scintilátor zachycuje zpětně odražené elektrony odražené pod velkým úhlem, daří se mu jich zachytit velké množství. Jako v případě Everhart-Thornleyova detektoru je světlo vedeno přes světlovod do fotonásobiče, kde je z fotonů převedeno na elektronový signál [30].

Další typ detektoru zpětně odražených elektronů je polovodičový detektor. Tento detektor tvoří křemíková dioda umístěná přímo pod objektivem. Do křemíku jsou přidány atomy arsenu a fosforu, aby se stal elektricky vodivým. Dioda je složena z N vrstvy (vodivost díky elektronům) a P vrstvy (vodivost díky díram). Mezi těmito vrstvami je přechodová oblast, kde chybí nosiče proudu, protože se rozptýlily přes rozhraní. Pokud přiložíme k přechodové

oblasti napětí, vytvoří se vysoké vnitřní elektrické pole napříč touto oblastí. Pokud se zpětně odražený elektron přiblíží k detektoru a pronikne do přechodové oblasti, jeho zbývající kinetická energie je využita k excitaci elektronu z valenční vrstvy. Elektron přejde mezi vodivostní elektrony, čím se vytvoří volné elektrony a díry. Ty se pak pohybují pod vlivem vnitřního pole a mezi elektrodami v externím obvodu začne protékat elektrický proud. Dopad zpětně odraženého elektronu na detektor může být zaznamenán měřením proudových pulzů nebo průměrného proudu (úměrný počtu dopadajících elektronů za sekundu). Sekundární elektrony nejsou detekovány, neboť nemají dostatek energie, aby se dostaly do přechodové oblasti [26, 30].

Robinsonův i polovodičový detektor zpětně odražených elektronů jsou umístěny přímo nad vzorkem. Udávají tak velký kompoziční kontrast (rozdíly v protonovém čísle). Pokud je polovodičový detektor vícekvadrantový, lze detektorem zaznamenat i určitou formu pseudo-topografického kontrastu [26].



Obr. 39: Porovnání zobrazení staženiny a) E-T detektorem, b) TTL detektorem na mikroskopu Zeiss Ultra plus

4.3.7 Obrazové signály v SEM

Ve skenovací elektronové mikroskopii se používá zobrazení pomocí signálů sekundárních nebo zpětně odražených elektronů. Sekundární elektrony jsou emitovány ze slabé povrchové vrstvy a mají nízkou energii, která je jen o něco málo větší než energie potřebná k uvolnění elektronů z povrchu vzorku. Zpětně rozptýlené elektrony pochází z většího objemu pod povrchem vzorku a mají vyšší energii. Každý typ elektronů vytváří jiný druh kontrastu. Kontrast se projevuje jako rozdíl v emisi elektronů dvou sousedních bodů na vzorku a je závislý na povrchové topografii a protonovém čísle vzorku. Ve skenovací elektronové mikroskopii proto rozlišujeme kontrast kompoziční a topografický [26].

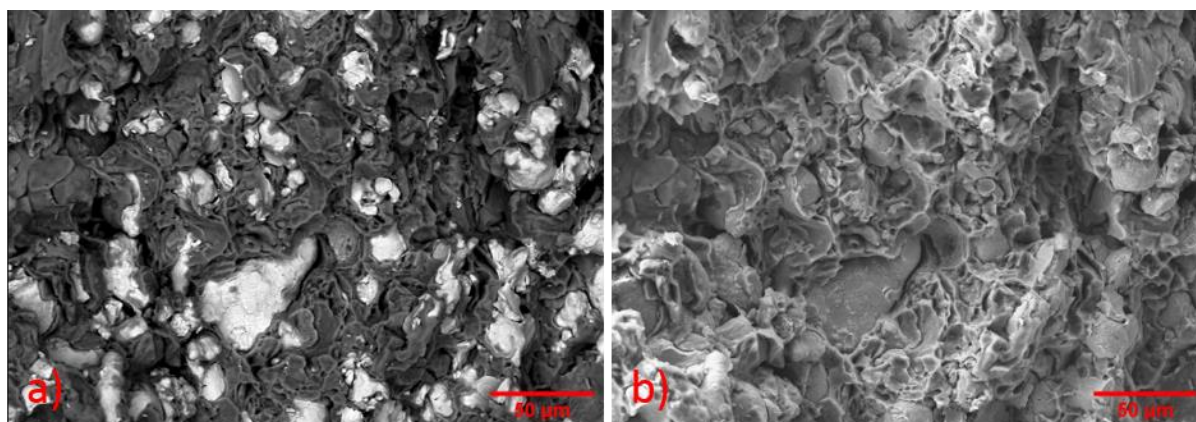
Kompoziční kontrast lze získat při detekci zpětně odražených elektronů (BSE). Protože BSE mají velkou energii, můžeme je rozlišit od SE, které mají mnohem menší energii. BSE proto vycházejí z mnohem větší hloubky pod povrchem vzorku. Obrazy vytvořené pomocí BSE mají kontrast z důvodu rozdílného chemického složení (protonového čísla). Pro prvky s vyšším protonovým číslem je větší podíl primárních elektronů emitujících se jako zpětně odražené,

proto se tato místa jeví v obraze jako světlá. Naopak prvky s nižším protonovým číslem se jeví jako tmavé, proto je takto získaný kontrast nazýván kompoziční. Tento typ kontrastu zobrazený pomocí BSE zachycuje obrázek č. 40 a). Určitá část sekundárních elektronů označovaná SE2 a SE3 je emitována v důsledku srážky se zpětně odraženým elektronem. Proto SE2 a SE3 mohou udávat určitou formu kompozičního kontrastu [26, 30].

Topografický kontrast vzniká v důsledku členitosti povrchu (topografie) vzorku. Povrchovou topografií lze zobrazit pomocí sekundárních elektronů. Do obrazu přispívají ale i zpětně odražené elektrony. Sekundární elektrony mají menší energii (cca 50 eV) a vystupují tedy z docela malé hloubky pod povrchem vzorku. Množství emitovaných a detektorem zachycených BSE i SE ze vzorku ovlivňuje natočení vzorku vzhledem k elektronovému svazku. U BSE také záleží na tom, pod jakým úhlem se odrazily od vzorku. BSE a SE tak udávají informace o náklonu a orientaci plochy, ze které se odrazily. Plochy natočené přímo naproti detektoru se objeví jako světlé (elektrony spíše dosáhnou detektoru). Díky tomu lze rozlišit vyvýšená místa a prohlubně na povrchu vzorku – lze dosáhnout trojrozměrného vzhledu. Topografický kontrast obrazu vytvořený SE E-T detektorem je na obrázku č. 40 b). Tabulka č. 4 udává princip zobrazení u topografického i kompozičního kontrastu [30, 31].

Tabulka 4: Zobrazení prvků a ploch v režimu BSE a SE [26]

Režim BSE	Těžké prvky	Větší protonové číslo	Světlé
	Lehké prvky	Malé protonové číslo	Tmavé
Režim SE	Nakloněné plochy	Více elektronů do detektoru Vyšší intenzita signálu	Světlé
	Rovné plochy	Elektrony odražené mimo detektor	Tmavé



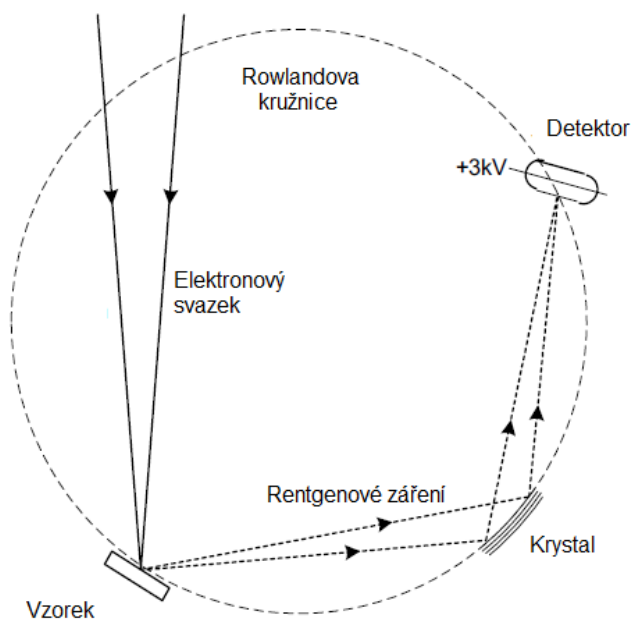
Obr. 40: Porovnání stejného místa lomové plochy zobrazeného pomocí a) BSE, b) SE (železné částice v hliníkové matici), zobrazeno mikroskopem SEM Zeiss Ultra plus

4.3.8 Prvková analýza v SEM

Stejně jako u transmisní elektronové mikroskopie lze i u SEM určit prvkové složení interakčního objemu. Prvková analýza se provádí měřením rozložení energie a intenzity rentgenového signálu, vytvořeného při interakci svazu primárních elektronů se vzorkem. Pro detekci rentgenového záření se využívá spektrometry. Ty provádí rozklad rentgenového záření podle energie (EDS), či podle vlnové délky (WDS). Rozlišují se tedy dva způsoby spektrální analýzy. Analýza EDS je stejná jako u transmisní elektronové mikroskopie a byla popsána v kapitole 4.2.7. Příkladem využití analýzy EDS jsou mapy obsahu jednotlivých prvků, zachycující stejné místo na vzorku automatové oceli s příměsí olova. Tyto mapy jsou zachyceny na obrázku č. 42. Neboť byl energiově disperzní spektrometr popsán již dříve, bude dále rozebrán vlnově disperzní spektrometr (WDS) [28].

WDS (vlnově disperzní analýza) je analýza vlnové délky rentgenového záření. Spektrum rentgenového záření, vybuzené v analyzované oblasti vzorku svazkem urychlených primárních elektronů, snímá vlnově disperzní spektrometr (na obrázku č. 41). Energie svazku dopadajícího na vzorek musí být 2 až 2,5krát větší než excitační energie pro daný prvek. Braggův zákon pro difrakční maxima, z něhož lze určit vlnovou délku rentgenového záření, udává rovnice č. 33.

Vlnově disperzní spektrometr je tvořen analyzujícím krystalem (např. LiF, PET, STE) a detektorem. Krystaly mají velkou vzdálenost krystalových rovin d , aby bylo možné analyzovat i lehké prvky. Používané detektory u WDS plynoměrné proporcionální čítače, případně čítače scintilační. Účelem vlnově disperzního spektrometru je vytvořit vlnové spektrum, tedy závislost intenzity záření a vlnové délky [12, 28–30].



Obr. 41: Vlnově disperzní spektrometr. Převzato z [28]

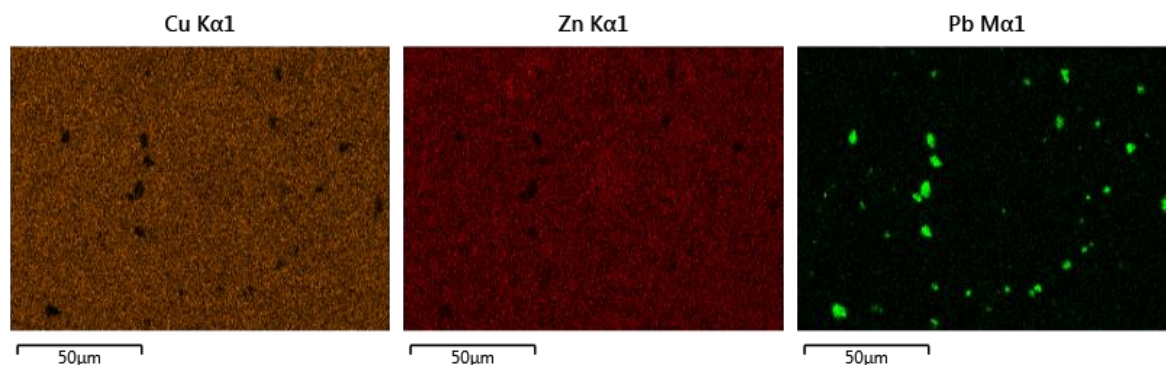
Pro difrakci na krystalu platí Braggův zákon:

$$2 \cdot d_{hkl} \cdot \sin(\theta_B) = \lambda, \quad (33)$$

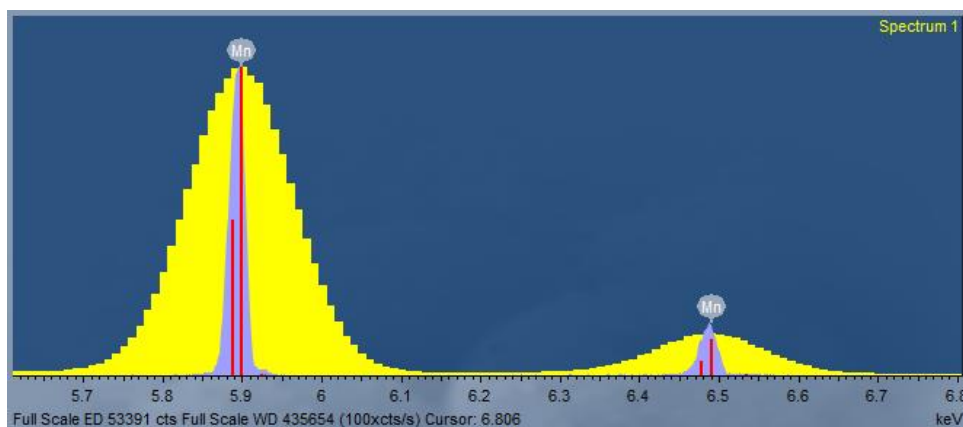
θ_B [°] je úhel, pod kterým dopadá rentgenové záření na krystal, d_{hkl} [m] vzdálenost krystalografických rovin, λ vlnová délka a θ_B je Braggův úhel, při kterém dochází k difrakci. Z rovnice č. 33 vyplývá, že difrakční podmínka je splněna v daném okamžiku pouze pro jedinou konkrétní vlnovou délku a jeden úhel θ_B , který je určen vzájemnou polohou analyzovaného místa na vzorku, analyzujícího krystalu a detektoru. Ty společně leží na jednotkové kružnici zvané Rowlandova. Pokud je v analyzovaném místě vzorku přítomen prvek emitující záření o příslušné vlnové délce rentgenového spektra dojde k difrakci [28–30].

Difraktované rentgenové záření vstoupí do detektoru, kde je převedeno na elektrické impulsy a je tak změřena jeho intenzita. Krystal s detektorem se pohybují, aby byl změřen potřebný rozsah délek rentgenového záření a analyzovaly se tak všechny prvky přítomné ve vzorku. Popřípadě je v detektoru umístěno více krystalů s různými vzdálenostmi krystalografických rovin d , protože jeden krystal není většinou schopen pokrýt celé energetické spektrum. K sestavení vlnového spektra je třeba určit intenzitu záření. Ta se rovná množství elektronických pulzů z detektoru za jednotku času. Po nezbytných korekcích představuje intenzita záření určité vlnové délky obsah prvku v daném místě [28–30].

WDS analýza má vysoké spektrální rozlišení (6 eV na kanál), nízké detekční limity (od 0,01 Hm%) a je možné pomocí ní detekovat i prvky s malým protonovým číslem, je však nutná relativně vysoká energie svazku a jsou kladeny větší nároky na kvalitu povrchu vzorku. Naopak EDS má nižší rozlišení, ale zařízení je méně finančně nákladné a rychlejší než WDS. Porovnání naměřených spekter metodami WDS a EDS je znázorněno na obrázku č. 43. U metody WDS je šířka piků v porovnání s EDS spektrem výrazně menší a přináší tedy přesnější informace o prvkovém složení. U metody EDS jsou píky široké a mohou se překrývat. Pokud se píky překrývají u prvků, které mají spektrální čáry blízko sebe, důsledkem může být chyba v určení přítomnosti některých prvků [28–30].



Obr. 42: Mapy prvkového složení mosazi s příměsí olova (měď, zinek a olovo)



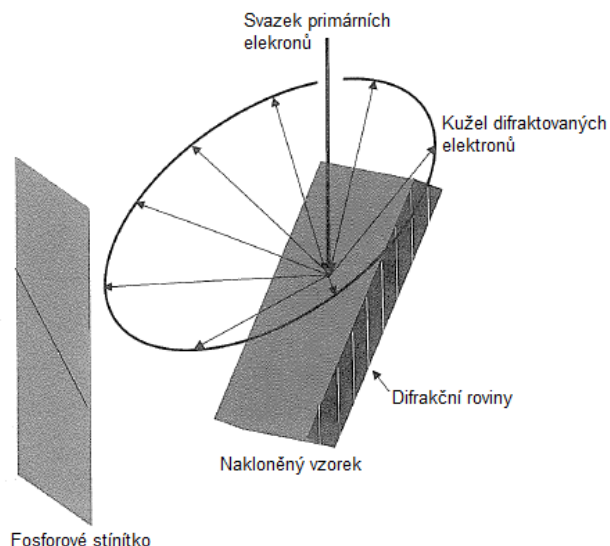
Obr. 43: Porovnání metody EDS (žlutá) a WDS (růžová)

4.3.9 Fázová analýza v SEM

Ve skenovacích elektronových mikroskopech lze využít přídavnou techniku difrakce zpětně odražených elektronů (EBSD). EBSD je účinným nástrojem pro zjišťování fázového složení zrn a jejich krystalografické orientace. Pro určování fázového složení musíme znát základní krystalografické parametry, jako je vzdálenost krystalografických rovin, úhly mezi rovinami a prvky krystalové symetrie. Právě tyto hodnoty nám pomůže získat EBSD [26].

Při EBSD je vzorek nakloněný pod velkým úhlem (mezi paprskem a vzorkem je úhel asi 20°), což zvyšuje emisi zpětně odražených elektronů. Vzorek pro tuto techniku musí být vodivý a mít rovnou a hladkou plochu. Zpětně odražené elektrony, které ztratily málo energie, mohou difraktovat na krystalografických rovinách, pokud je splněn Braggův zákon daný rovnicí č. 33. BSE tedy musí dopadnout na danou rovinu pod Braggovým úhlem θ_B . Vlnová délka zpětně odražených elektronů je dána urychlovacím napětím, jež se pohybuje mezi 10 kV až 30 kV. Takto difraktované zpětně odražené elektrony lze využít k získání informací o krystalografické orientaci zrn a fázovém složení vzorku [26, 33, 34].

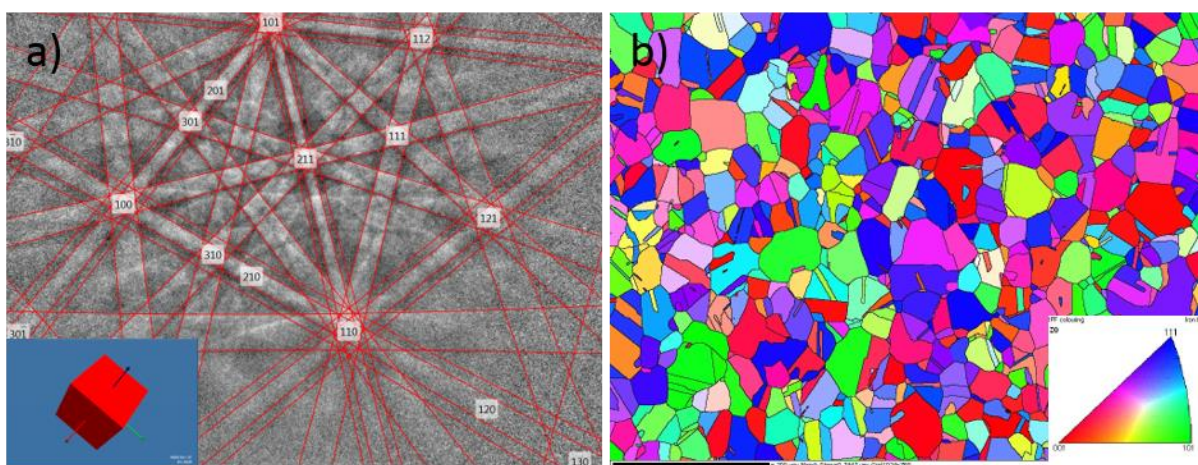
Difraktované elektrony z každé krystalografické roviny tvoří dva kužely s velkým vrcholovým úhlem, zachycené na obrázku č. 44. Poloviční vrcholový úhel je $(90^\circ - \theta_B)$, přičemž úhel θ_B bývá menší než 2° . Kužely jsou následně zobrazeny na rovinné stínítko a vytvoří zde dvě téměř rovné čáry, vzdálené od sebe o 2θ . Protože z každé roviny jsou generovány dvě rovnoběžné linie, vznikne difrakční vzor, který je tvořen velkým množstvím těchto Kikuchiho čar. Dvojice čar se na více místech protínají. Výsledný vzor je gnómonickou projekcí krystalové mřížky na ploché fosforové obrazovce a dá se také považovat za mapu úhlových vztahů v krystalu. Vzdálenost mezi párem čar jedné roviny je nepřímo úměrná vzdálenosti mezi krystalografickými rovinami d_{hkl} [26, 34].



Obr. 44: Difrakce BSE na povrchu vzorku a kužel difraktovaných BSE. Převzato z [26]

Difrakční vzor vytvořený EBSD je přenášán na fosforové stínítko, které je snímáno CCD kamerou. Následně je převeden do počítače, kde dojde k indexování a následně se provede analýza. Často se používají kamery, které umí zachytit i světlo s nízkou intenzitou, protože fosforové stínítko nemusí poskytovat dostatečný zdroj světla. Jako příklad využití metody EBSD je uvedena difrakční paterna nerezové austenitické chrom-niklové oceli (mřížka FCC) zachycená na obrázku č. 45 a) [26, 34].

Výhodou techniky EBSD je rychlé získávání dat a relativně jednoduché zacházení se systémem. Lze pomocí ní vytvářet mapy orientace, které využívají barevného zobrazení zrn s různou krystalografickou orientací. Jedná se o příčné řezy vzorkem. Barevné kódování je řešeno za pomoci stereografického trojúhelníku. Mapa orientace zrn nerezové austenitické chrom-niklové oceli je na obrázku č. 45 b) [26, 34].



Obr. 45: a) Difrakční paterna, b) Mapa orientace zrn austenitické struktury chrom-niklové oceli

4.3.10 Skenovací transmisní elektronová mikroskopie STEM

U velmi tenkých vzorků je možno zachytit i elektrony prošlé vzorkem a uplatnit tak princip řádkovacího mikroskopu u transmisního mikroskopu. Toto spojení dvou technik elektronové mikroskopie se nazývá transmisní řádkovací elektronová mikroskopie (STEM). V případě transmisního elektronového mikroskopu je ozářen celý povrch vzorku a obraz vzniká najednou, v jednom časovém okamžiku. U řádkovacího transmisního mikroskopu je elektronový svazek zaostřen na jedno místo na vzorku a detektorem, umístěným pod vzorkem, se následně zachycuje intenzita prošlých elektronů. Vzorek je elektronovým svazkem řádkován bod po bodu a obraz je získáván postupně. Elektrony vzorkem projdou buď přímo, nebo se odchýlí od své dráhy. Tyto dva signály je nutné detekovat odděleně. Aby se tyto dva signály separovaly, vloží se mezi vzorek a detektor clona, která propustí jen neodchýlené paprsky, nebo jen paprsky odchýlené od původní dráhy. V případě, že projdou pouze neodchýlené elektrony, pozorujeme ve světlém poli. Pokud přes clonu naopak projdou jen rozptýlené elektrony, odchýlené od svých drah, pozorujeme v tmavém poli [8].

4.3.11 Příprava vzorků pro SEM

V SEM nejsou kladeny tak vysoké nároky na úpravu vzorku jako u transmisní elektronové mikroskopie. Jediným limitem velikosti vzorku je rozměr vzorkové komory. Vzorek se nemusí zvlášť upravovat na určitou tloušťku, neboť je možné pozorovat i objemnější vzorky. Většina skenovacích elektronových mikroskopů má výšku komory okolo 1 až 2 cm. U vzorků pro SEM je nutné vyvolat strukturu povrchu. Při přípravě vzorku také záleží na tom, jakou informaci chceme ze vzorku získat, tedy jestli bude vzorek použit ke zkoumání struktury povrchu, či analýze chemického nebo fázového složení. U nevodivých vzorků se povrch pokrývá tenkou vrstvou kovu, aby se eliminoval povrchový náboj na vzorku [26, 28].

Vzorky k určení povrchové topografie (lomové plochy) se často nemusí vůbec nebo pouze málo upravovat. Vzorek musí být opatrně oříznut, aby se vešel do vzorkové komory. Při řezání nesmí být vzorek poškozen a nesmí být změněna jeho struktura nebo složení. Po ořezání je vzorek očištěn v rozpouštědle, které nesmí ovlivnit jeho povrch (třeba aceton) a dále může být použit ultrazvukový čistič. Na závěr se vzorek opláchne methanolem, aby se odstranily zbytky čističů a případné nečistoty. Pokud by rozpouštědlo příliš reagovalo se vzorkem a hrozilo by odloučení některých částic vzorku, je vzorek pozorován bez čištění. Očištěný vzorek se umístí do držáku, kde je uchycen pomocí lepidla nebo vodivého nátěru. Vzorek musí být uzemněn, proto v případě upevnění nevodivým lepidlem, je na vzorek nanesen vodivý proužek. Nevodivé částice (např. keramika) se pokryjí tenkou vodivou vrstvou [26].

Příprava vzorků pro mikrostrukturální a mikrochemickou analýzu má stejný postup jako příprava výbrusů ve světelné mikroskopii, popsané v kapitole 3.8. U přípravy vzorku musí být kladen důraz zejména na to, aby nedošlo k ovlivnění struktury nebo fázového a chemického složení vzorků. Rozdílem oproti světelné mikroskopii je, že není vhodné použití tepelného leptání, z důvodu zanesení povrchu vzorku oxidy. Při pozorování povrchu pomocí BSE lze leptání i zcela vynechat. Na závěr může být vzorek potažen tenkou vodivou vrstvou. U nevodivých vzorků musí být zajištěno uzemnění [26].

Příprava pro kvantitativní mikroanalýzu je většinou stejná jako pro mikrostrukturální analýzu. V případě, že je vzorek umístěn na držáku, musí být nevodivý držák pokryt tenkou vodivou vrstvou. Držák i zbytkové nečistoty po leštění vzorku způsobují rušivé signály při analýze rentgenového záření. Vzorky pro analýzu rentgenového záření by měly být dokonale rovné, bez škrábanců a s minimální topografií povrchu (neleptají se). Pokud vzorek obsahuje více fází či více zrn, může na jejich rozhraní docházet ke skokovým změnám. Skoky mohou způsobit chyby v kvantitativní rentgenové analýze [26].

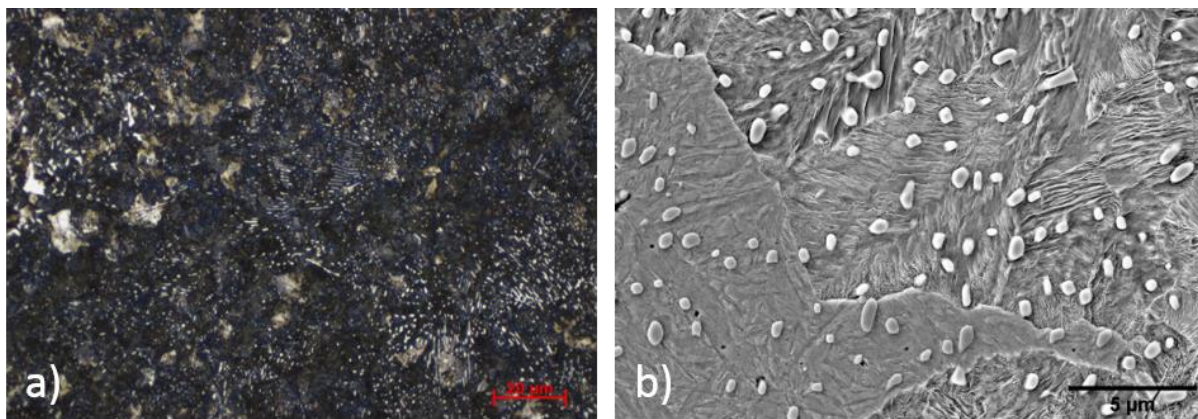
4.3.12 Možnosti a limity SEM

Skenovací elektronová mikroskopie umožňuje nejen pozorovat povrch materiálu, při topografickém (SE) nebo kompozičním (BSE) kontrastu. Pomocí SEM a jejích přidavných technik lze určit také prvkové složení vzorku, fázové složení, orientaci jednotlivých zrn. S využitím techniky EBSD se dají vytvářet mapy orientace krystalografických rovin jednotlivých zrn ve vzorku.

Vzorek pro skenovací elektronovou mikroskopii musí být vodivý, na nevodivé vzorky musí být nanášena velice tenká vrstva kovu. SEM na rozdíl od TEM umožňuje zobrazovat i objemné vzorky s velkou tloušťkou. V podstatě jediným omezením je velikost komory vzorku. Příprava vzorku není tak náročná jako u TEM a ve většině kroků se shoduje s přípravou vzorků pro světelnou mikroskopii [26].

Zvětšení dosažitelné u SEM se pohybuje od $5\times$ až do $50\,000\times$. Nejvíce používané zvětšení při topografickém zkoumání povrchu je $10\times$ až $10\,000\times$. Rozlišovací schopnost skenovacího elektronového mikroskopu dosahuje vynikajících hodnot, pomocí SEM lze rozlišit detaily o velikosti 1 nm. Výhodou u SEM je také velká hloubka ostrosti a zároveň dostatečné zvětšení. Velká hloubka ostrosti umožňuje 3D zobrazení objektů. SEM lze tedy využívat k zobrazení členitých povrchů např. lomových ploch [19, 26, 28].

Velký posun v rozlišení detailů a v limitech SEM oproti světelné mikroskopii ilustruje obrázek č. 46. Na obrázku je zachycen velmi jemný perlit s disperzí drobných karbidů, zobrazený a) světelným mikroskopem Zeiss Axio Observer Z1m při zvětšení $1000\times$ a b) skenovacím elektronovým mikroskopem Zeiss Ultra plus při zvětšení $2000\times$. Zatímco u světelné mikroskopie nejsou detaily struktury rozlišitelné, u SEM lze pozorovat jednotlivá zrna jemného perlitu a disperzi drobných karbidů.



Obr. 46: Porovnání a) světelné mikroskopie při zvětšení $1000\times$ a b) skenovací elektronové mikroskopie při zvětšení $5\,000\times$

5 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo popsat teoretické základy mikroskopických technik využívaných pro analýzu materiálů, dále také fyzikální podstatu tvorby signálů a podstatu světelné a elektronové optiky.

V úvodu práce byla krátce shrnuta historie mikroskopie se zaměřením na materiálové inženýrství. První polovina práce byla věnována popisu techniky světelné mikroskopie. Ta využívá k zobrazení vzorku světlo z viditelného spektra. Byly definovány základní veličiny popisující světelný mikroskop, jako například rozlišení, hloubka ostrosti, numerická apertura objektivu a další. Následně byly uvedeny různé zobrazovací metody ve světelné mikroskopii, tedy světlé pole, tmavé pole, polarizační mikroskopie, fázová a interferenční mikroskopie. Rozlišení u klasické světelné mikroskopie je však omezeno vlnovou délkou použitého světla. Světelný mikroskop je schopen rozlišit detaily o velikosti zhruba 200-500 nm a umožňuje zvětšení až 2000×. Protože však není světlo schopné proniknout přes vzorky, které nejsou transparentní (např. kovy), lze ve světelné mikroskopii zobrazit pouze povrch těchto materiálů.

V další kapitole je rozveden princip konfokální skenovací mikroskopie. Pro zobrazení se v konfokální mikroskopii využívá také viditelné světlo nebo laserový paprsek. Osvětlení je však zaměřeno pouze do jednoho malého bodu a povrch vzorku je postupně skenován. Konfokální mikroskopie umožňuje pozorovat i vzorky s větší tloušťkou, které se ve světelném mikroskopu jeví jako rozostřené. Její výhodou je vysoké rozlišení, velká hloubka ostrosti a schopnost trojrozměrného zobrazení vzorků. Lze ji tedy použít např. k zobrazení lomových ploch.

Druhá polovina práce je věnována elektronové mikroskopii (EM). Nejdříve je popsán všeobecný princip elektronové mikroskopie. Ta je následně rozdělena na transmisní (TEM) a skenovací (SEM) elektronovou mikroskopii. EM zobrazuje povrch vzorku pomocí signálů vzniklých při interakci svazku primárních elektronů se vzorkem. Elektrony jsou schopné proniknout pod povrch vzorku (jak hluboko závisí na urychlovacím napětí) a podávají tak informace nejenom o struktuře povrchu, ale i objemu vzorku do určité hloubky. U TEM prochází elektronový svazek skrz vzorek. Je možné zvětšení až 1 000 000× a rozlišení zhruba 1 nm. Je ovšem vyžadována speciální příprava vzorku, který musí být dostatečně tenký, aby ho prozářily elektrony. Pomocí TEM se zobrazují např. vady v krystalech a následky deformací. Lze také určovat prvkové složení a orientaci zrn pomocí difrakce. SEM využívá k vytvoření obrazu vzorku sekundární a zpětně odražené elektrony. Je tak možné zobrazit topografický i kompoziční kontrast. Elektronový svazek je zaměřen pouze na jeden malý bod na vzorku a obraz vzniká postupným skenováním povrchu. U SEM se používá zvětšení 5 až 50 000× a rozlišení dosahuje až 1 nm. Výhodou je vysoká hloubka ostrosti a trojrozměrné zobrazení vzorku. I u SEM lze využít signály rentgenového záření (EDS a WDS) a určit prvkové složení. Popřípadě lze využít difrakci zpětně odražených elektronů (EBSD) k určení fázového složení nebo krystalografické orientace zrna. Pomocí EBSD se vytvářejí také mapy orientace zrn ve struktuře materiálu.

6 Literatura

- [1] MEIDENBAUER, Jörg a Karl-Heins ASENBAUM. *Objevy & vynálezy: světová kronika*. Čestlice: Rebo, 2005. ISBN 978-80-7234-410-9.
- [2] ABRAMOWITZ, Mortimer a Michael W. DAVIDSON. *Anatomy of the Microscope - Introduction*. *Olympus* [online]. [vid. 2019-02-13]. Dostupné z: <https://www.olympus-lifescience.com/en/microscope-resource/primer/anatomy/introduction/>
- [3] CROFT, William J. *Under the microscope: a brief history of microscopy*. Hackensack, NJ: World Scientific, 2006. Series in popular science, v. 5. ISBN 978-981-02-3781-3.
- [4] CHIMILESKI, Scott a Roberto KOLTER. *Life at the edge of sight: a photographic exploration of the microbial world*. Cambridge, Massachusetts: The Belknap Press of Harvard University Press, 2017. ISBN 978-0-674-97591-0.
- [5] MURPHY, Douglas B. a Michael W. DAVIDSON. *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging*. 2nd ed. Hoboken, N.J: Wiley-Blackwell, 2013. ISBN 978-0-471-69214-0.
- [6] KARLÍK, Mirek. Transmisní elektronová mikroskopie: pohled do nitra materiálů, *Čs.čas.fyz.* 55, 2005, 457-464. Dostupné z: https://nanoed.tul.cz/pluginfile.php/603/mod_resource/content/1/TEM_05_Karlik.pdf
- [7] HALLIDAY, David, Robert RESNICK, Jearl WALKER, Petr DUB, Miroslav ČERNÝ a VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ. *Fyzika*. Brno: VUTIUM, 2013. ISBN 978-80-214-4123-1.
- [8] MACEK, Karel, František HNILICA, Vladimír STARÝ, ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE a STROJNÍ FAKULTA. *Experimentální metody v materiálovém inženýrství*. Praha: Nakladatelství ČVUT, 2008. ISBN 978-80-01-03934-2.
- [9] ZEISS Axio Lab.A1. *Zeiss* [online]. [cit. 2019-05-27]. Dostupné z: <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/light-microscopes/axio-lab-a1-for-materials.html#shop>
- [10] Axio Observer for Materials. *Zeiss* [online]. [vid. 2019-05-09]. Dostupné z: <https://www.zeiss.com/microscopy/us/products/light-microscopes/axio-observer-for-materials.html>
- [11] PAJS. Grafická konstrukce optického zobrazení mikroskopem. *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 27. květen 2019 [vid. 2019-02-15]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Opticke_zobrazeni_mikroskop.svg
- [12] PTÁČEK, Luděk. *Nauka o materiálu I*. Brno: CERM, 2003. ISBN 978-80-7204-283-8.
- [13] WAYNE, Randy. *Light and video microscopy*. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier, 2009. ISBN 978-0-12-374234-6.

- [14] Critical vs Köhler Illumination. *University of California, Berkeley* [online]. [vid. 2019-05-10]. Dostupné z: <http://microscopy.berkeley.edu/courses/TLM/condenser/optics.html>
- [15] ROTTENFUSSER, Rudi, Erin E. WILSON a Michael W. DAVIDSON. Image formation. *Education in Microscopy and Digital Imaging* [online]. Dostupné z: <https://www.med.unc.edu/microscopy/files/2018/06/image-formation.pdf>
- [16] VOJTKULÁKOVÁ, Zina. *Světelná mikroskopie* [online]. [vid. 2019-04-21]. Dostupné z: <http://ime.fme.vutbr.cz/images/umvi/opory/sm/Optika%20a%20typy%20kap2.html#006>
- [17] PLÁŠEK, Jaromír. Nové metody optické mikroskopie. *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie*. 1996, **41**(1), 1–24. Dostupné také z: <https://dml.cz/handle/10338.dmlcz/139719>
- [18] ŠEBESTOVÁ, Hana. Základy přípravy vzorků pro optickou metalografii. In: *Portál moderní fyziky* [online]. [cit.2019-05-18] Dostupné z: <https://fyzika.upol.cz/cs/system/files/download/vujtek/texty/znm2-1.pdf>
- [19] CALLISTER, William D. *Materials science and engineering: an introduction*. 7th ed. New York: John Wiley & Sons, 2007. ISBN 978-0-471-73696-7.
- [20] *Basic confocal microscopy*. New York, NY: Springer Science+Business Media, LLC, 2018. ISBN 978-3-319-97453-8.
- [21] CORLE, Timothy R. a Gordon S. KINO. *Confocal scanning optical microscopy and related imaging systems*. San Diego: Academic Press, 1996. ISBN 978-0-12-408750-7.
- [22] ICEWALKER. Konfokální_mikroskop.png. In: *Wikipedia the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2010 [vid. 2019-04-23]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/images/thumb/f/f9/Konfok%C3%A1lni_mikroskop.png/300px-Konfok%C3%A1lni_mikroskop.png
- [23] MERSON, E.D., V.A. DANILOV, M.L. LINDEROV, P.N. MYAGKIKH, D.L. MERSON a A. VINOGRADOV. Assessing Fracture Surface Ductility by Confocal Laser Scanning Microscopy. *ECF22 - Loading and Environmental effects on Structural Integrity* [online]. 2018, **13**, 2152–2157. ISSN 2452-3216. Dostupné z: doi:10.1016/j.prostr.2018.12.149
- [24] NOTHNAGLE, Paul E., William CHAMBERS a Michael W. DAVIDSON. Introduction to Stereomicroscopy. *MicroscopyU* [online]. 2019 [vid. 2019-05-19]. Dostupné z: <https://www.microscopyu.com/techniques/stereomicroscopy/introduction-to-stereomicroscopy>
- [25] LUO, Zhiping. *Practical Guide to Transmission Electron Microscopy*. [online]. B.m.: Momentum Press, 2015 [vid. 2019-05-10]. ISBN 978-1-60650-704-9. Dostupné z: <http://www.mylibrary.com?id=875795>
- [26] GOLDSTEIN, Joseph, ed. *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003. ISBN 978-0-306-47292-3.

- [27] WILLIAMS, David B. a C. Barry CARTER. *Transmission electron microscopy: a textbook for materials science*. 2nd ed. New York: Springer, 2008. ISBN 978-0-387-76500-6.
- [28] KUBÍNEK, Roman, Klára ŠAFÁŘOVÁ a Milan VŮJTEK. *Elektronová mikroskopie* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2739-3. Dostupné z: fyzika.upol.cz/cs/pro-studenty/elektronova-mikroskopie
- [29] REIMER, Ludwig. *Scanning electron microscopy: physics of image formation and microanalysis*. 2010. ISBN 978-3-642-08372-3.
- [30] EGERTON, R. F. *Physical principles of electron microscopy: an introduction to TEM, SEM, and AEM*. New York, NY: Springer, 2005. ISBN 978-0-387-25800-3.
- [31] NEWBURY, Dale E, David C JOY, Patrick ECHLIN, Charles E FIORI a Joseph I GOLDSTEIN. *Advanced Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis* [online]. Boston, MA: Springer US : Imprint : Springer, 1986 [vid. 2019-05-15]. ISBN 978-1-4757-9027-6. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4757-9027-6>
- [32] CARTER, C. Barry. *Transmission electron microscopy: diffraction, imaging, and spectrometry*. 1. edition. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2016. ISBN 978-3-319-26649-7.
- [33] ENGLER, Olaf a V. RANDLE. *Introduction to texture analysis: macrotexture, microtexture, and orientation mapping*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. ISBN 978-1-4200-6365-3.
- [34] SCHWARTZ, Adam J., ed. *Electron backscatter diffraction in materials science*. 2nd ed. New York: Springer, 2009. ISBN 978-0-387-88135-5.

7 Seznam použitých zkratk a symbolů

Zkratky

AE	Augerovy elektrony
AFM	Mikroskopie atomárních sil
BSE	Zpětně odražené elektrony
CCD	Charge-Coupled Device
CMO	Společný hlavní objektiv (Common Main Objective)
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
EBSD	Difrakce zpětně odražených elektronů
EDS	Energiově disperzní spektrometr
EPMA	Mikroskopie elektronickou sondou
E-T	Everhart-Thornleyův detektor
FET	Tranzistor řízený elektrickým polem
FFT	Rychlá Fourierova transformace (Fast Fourier Transform)
FIB	Technika fokusovaného iontového svazku
LSCM	Laserová skenovací konfokální mikroskopie
SE	Sekundární elektrony
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
SSC	Slow-scan kamera
STM	Skenovací tunelovací mikroskopie
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
TSCM	Tandemová skenovací konfokální mikroskopie
TTL	Detektor uvnitř čočky (Through-Lens-Detector)
UV	Ultrafialové záření
WDS	Vlnově disperzní spektrometr

Symbols

A	[-]	Numerická apertura
α	[°]	Otvorový úhel objektivu/čočky
A	[kg·mol ⁻¹]	Atomová hmotnost atomu
B	[T]	Elektromagnetická indukce
C	[-]	Kontrast
c	[m·s ⁻¹]	Rychlost světla ve vakuu

C_C	[mm]	Koeficient chromatické vady
C_S	[mm]	Koeficient sférické vady
d	[mm]	Mezirovinná vzdálenost
D	[mm]	Optická délka tubusu mikroskopu
d	[mm]	Rozlišení mikroskopu
ΔE	[eV]	Rozptyl energie
D_f	[-]	Difraktografická konstanta
d_{hkl}	[μm]	Vzdálenost krystalografických rovin
d_l	[mm]	Vzdálenost rozlišitelná lidským okem
d_{\min}	[mm]	Minimální rozlišitelná vzdálenost
D_P	[μm]	Délka hrany pixelu
d_p	[μm]	Průměr stopy elektronového svazku
e	[C]	Náboj elektronu
ε	[eV]	Energie fotonů rentgenového záření
E	[$\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$]	Intenzita elektrického pole
E, W_k	[eV]	Energie elektronů, kinetická energie elektronů
E_0	[eV]	Počáteční energie elektronů
F	[N]	Lorentzova síla
$f, f_{\text{obj}}, f_{\text{ok}}$	[mm]	Ohnisková vzdálenost, ohnisková vzdálenost objektivu a okuláru
H	[mm]	Hloubka ostroti
h	[$\text{N} \cdot \text{m} \cdot \text{s}$]	Planckova konstanta
I	[A]	Intenzita sytícího proudu
I	[$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$]	Intenzita záření prošlého vzorkem
I_0	[$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$]	Intenzita záření dopadajícího na vzorek
i_c	[$\text{A} \cdot \text{cm}^{-2}$]	Proudová hustota katodové emise
L	[m]	Vzdálenost stínítka od vzorku
L	[mm]	Délka úseku řádkovaného na obrazovce
L'	[mm]	Délka úseku řádkovaného na vzorku
L_{vzorku}	[mm]	Délka skenované oblasti vzorku
m_e	[kg]	Hmotnost elektronu

n	$[-]$	Index lomu
N	$[-]$	Počet atomů ve vzorku
n	$[-]$	počet závitů cívky
N_0	$[\text{mol}^{-1}]$	Avogadrova konstanta
N_P	$[-]$	Počet pixelů po délce
R	$[\text{m}]$	Střední poloměr čočky
r	$[\text{mm}]$	Vzdálenost stop prošlého a difraktovaného paprsku
r_{ch}	$[\text{mm}]$	Poloměr chromatické vady
r_s	$[\text{mm}]$	Poloměr sférické vady
T	$[\text{K}]$	Termodynamická teplota katody
v	$[\text{m} \cdot \text{s}^{-1}]$	Rychlost světla/elektronů mimo vakuum
V	$[\text{V}]$	Urychlovací napětí
$Z, Z_{\text{obj}}, Z_{\text{ok}}, Z_{\text{stř}}, Z_{\text{proj}}$	$[-]$	Zvětšení, zvětšení objektivu, okuláru, střední čočky, projektivu
$Z_{\text{užitečné}}, Z_{\text{celk. už}}$	$[-]$	Užitečné zvětšení, celkové užitečné zvětšení
θ	$[\circ]$	Difrakční úhel
θ	$[\circ]$	Úhel rozptylu
λ	$[\text{mm}]$	Vlnová délka
λ	$[\text{mm}]$	Střední volná vzdálenost
μ	$[-]$	Zeslabovací součinitel
ρ	$[\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}]$	Hustota atomu ve vzorku
$\sigma, \sigma_{\text{atom}}$	$[\text{barn}]$	Interakční průřez, interakční průřez pro jeden atom,
σ_{celk}	$[\text{m}^{-1}]$	Celkový účinný průřez
Ω	$[\circ]$	Pevný úhel rozptylu

8 Seznam obrázků

Obr. 1: Základní části mikroskopu. Převzato z [9]	14
Obr. 2: Převrácené uspořádání mikroskopu. Převzato z [10].....	15
Obr. 3: Grafická konstrukce optického zobrazení mikroskopem. Převzato z [11]	15
Obr. 4: Skutečný obraz na sítnici. Převzato z [5]	16
Obr. 5: a) Kritické osvětlení; b) Köhlerovo osvětlení. Převzato z [14]	17
Obr. 6: Rozptylové kroužky. Převzato z [15].....	17
Obr. 7: Schéma pro výpočet hloubky ostrosti. Převzato z [12].....	20
Obr. 8: Hloubka ostrosti při plně otevřené apertuře	21
Obr. 9: Hloubka ostrosti při minimální apertuře	21
Obr. 10: Závislost normalizované intenzity FFT transformace (Fourier Modulus Density) na vlnočtu k [mm^{-1}] zaostřené části obrazu	22
Obr. 11: Závislost normalizované intenzity FFT transformace (Fourier Modulus Density) na vlnočtu k [mm^{-1}] rozostřené části obrazu	22
Obr. 12: a) Plná apertura; b) Malá apertura; c) Proostřování s plnou aperturou; d) Proostřování s malou aperturou	23
Obr. 13: Frekvenční spektrum FFT a) ostrá část snímku, b) rozostřená část snímku	24
Obr. 14: a) Chromatická vada; b) Sférická vada; c) Koma; d) Astigmatismus. Převzato z [5].....	25
Obr. 15: Struktura eutektoidní oceli při zvětšení $1000\times$ zobrazené mikroskopem Zeiss Axio Observer Z1m	28
Obr. 16: a) Pozorování kolmými paprsky; b) Pozorování šikmými paprsky. Převzato z [12]	29
Obr. 17: Pozorování v tmavém poli. Převzato z [12]	30
Obr. 18: Porovnání zobrazení austenitu při zvětšení $500\times$ na mikroskopu Zeiss Axio Observer Z1m a) ve světlém poli, b) v tmavém poli, c) polarizace obecná, d) polarizace při 90°	31
Obr. 19: Laserový skenovací konfokální mikroskop. Převzato z [22]	33
Obr. 20: Konfokální mikroskop na bázi rotujícího Nipkowova disku. Převzato z [20].....	34
Obr. 21: Lomová plocha s vyznačeným a zobrazeným výškovým profilem [23]	34
Obr. 22: Lomová plocha zobrazená stereomikroskopem Zeiss Stemi 508	36
Obr. 23: Rozptyl elektronů – vznik zpětně odraženého elektronu (pružný rozptyl) a sekundárního elektronu, Augerova elektronu a rentgenového záření (nepružný rozptyl). Převzato z [23]	38
Obr. 24: Rozptyl elektronů jedním izolovaným atomem. Převzato z [27]	39
Obr. 25: Typy signálů vznikajících při interakci elektronů se vzorkem. Převzato z [25].....	41
Obr. 26: Interakční objem. Převzato z [29]	42
Obr. 27: Energetické spektrum elektronů. Převzato z [27]	42
Obr. 28: Zdroj elektronů. Převzato z [30]	44
Obr. 29: Elektromagnetická čočka. Převzato z [30].....	45
Obr. 30: a) Korigovaný astigmatismus, b) Nekorigovaný astigmatismus	47
Obr. 31: Schéma transmisního elektronového mikroskopu. Převzato z [25]	49
Obr. 32: Bodová difrakce	53
Obr. 33: Skenovací elektronový mikroskop. Převzato z [26]	57
Obr. 34: Štěrbínovitá čočka. Převzato z [26]	58
Obr. 35: Imerzní čočka. Převzato z [26]	59

Obr. 36: Snorkelova čočka. Převzato z [26].....	59
Obr. 37: Princip skenování a modulace jasu na obrazovce. Převzato z [26]	60
Obr. 38: Umístění TTL a E-T detektoru. Převzato z [26]	63
Obr. 39: Porovnání zobrazení staženiny a) E-T detektorem, b) TTL detektorem na mikroskopu Zeiss Ultra plus.....	64
Obr. 40: Porovnání stejného místa lomové plochy zobrazeného pomocí a) BSE, b) SE (železné částice v hliníkové matici), zobrazeno mikroskopem SEM Zeiss Ultra plus	65
Obr. 41: Vlnově disperzní spektrometr. Převzato z [28].....	66
Obr. 42: Mapy prvkového složení mosazi s příměsí olova (měď, zinek a olovo)	67
Obr. 43: Porovnání metody EDS (žlutá) a WDS (růžová)	68
Obr. 44: Difrakce BSE na povrchu vzorku a kužel difraktovaných BSE. Převzato z [26].....	69
Obr. 45: a) Difrakční paterna, b) Mapa orientace zrn austenitické struktury chrom-niklové oceli	69
Obr. 46: Porovnání a) světelné mikroskopie při zvětšení 1000× a b) skenovací elektronové mikroskopie při zvětšení 5 000×	72

Seznam tabulek

Tabulka 1: Hloubka ostrosti pro suché objektivy.....	20
Tabulka 2: Typy objektivů [16]	26
Tabulka 3: Velikost pixelu jako funkce zvětšení [26].....	61
Tabulka 4: Zobrazení prvků a ploch v režimu BSE a SE [26]	65